

Санкт-Петербургский Государственный Университет

Зайнуллина Божана Радиковна

**Экспрессия гомеобокс-содержащих генов в процессе метаморфоза
Aurelia aurita (Cnidaria: Scyphozoa).**

Выпускная квалификационная работа
по направлению подготовки «Биология»
Основная образовательная программа бакалавриата «Биология»

Научный руководитель:
к.б.н., старший научный сотрудник
кафедры зоологии беспозвоночных
Старунов В. В.

Санкт-Петербург
2018

Оглавление.

Введение.	3
Обзор литературы.	4
Материалы и методы.	19
Результаты.....	25
Обсуждение результатов.....	31
Выводы.	35
Благодарности.	36
Список литературы.	37
Приложение 1.....	52
Приложение 2.....	53
Приложение 3.....	63
Приложение 4.....	64

Введение.

В 60-х годах прошлого века на стыке эмбриологии, морфологии и физиологии, генетики, эволюции и других наук возникла биология развития (Weiss, 1959, Gilbert et.al., 1996, Crowe, 2015). Это было связано с ростом популярности молекулярной биологии и появлением новых методов исследований (Fantini, 2000; Crowe, 2015), что позволило выявлять механизмы реализации генетических программ, изучать движущие силы в процессе онтогенеза, благодаря которым возникают структурные особенности организмов (Davidson, 2006).

Одним из важных регуляторов морфогенетических процессов являются Нох-гены - представители консервативной группы гомеобокс-содержащих генов. Они регулируют пространственную организацию зародыша вдоль орально-аборальной оси, определяют направление клеточных дифференциаций и их дальнейшую судьбу (McGinnis and Krumlauf, 1992; Lawrence and Morata, 1994, K.C. Wang et. al., 2009, J. Friedrich et. al., 2016).

Изученность Нох-генов у различных групп многоклеточных крайне неодинакова. Нох-гены подробно описаны у человека и модельных позвоночных (Acampora et al., 1989; Krumlauf, 1994; Burke et al., 1995), а также у некоторых модельных беспозвоночных (Bartels et al., 1993; Averof and Akam, 1995; De Rosa et al., 1999; Cook et al., 2001). Между тем, данные по сестринским таксонам Bilateria практически отсутствуют. Особое значение в этом отношении имеет группа Cnidaria. Сравнение Нох-генов книдарий и билатерий поможет приблизиться к пониманию изменений процессов развития в эволюции многоклеточных животных и реконструировать исходные программы развития, которые существовали у общего предка Cnidaria и Bilateria. В настоящее время Нох-гены описаны у двух групп Cnidaria (класс Hydrozoa и Anthozoa), в то время как по третьему обширному классу Scyphozoa данные практически отсутствуют (Kuhn et al., 1999).

Целью данной работы стало изучение экспрессии Нох-генов в лабораторной линии сцифоидной медузы *Aurelia aurita* (Cnidaria: Scyphozoa) (Linnaeus, 1758).

Были поставлены следующие задачи:

- поиск в транскриптоме *A. aurita* генов, гомологичных Нох-генам других животных
- построить филогенетическое дерево и определить, к каким классам относятся найденные Нох-гены
- визуализировать экспрессию генов с помощью *in situ* гибридизации

Обзор литературы.

Одна из центральных задач биологии развития представляет собой исследование природы генетических механизмов, которые регулируют ранние этапы эмбриогенеза и направление дифференциации клеток в соответствии с планом строения организма (Gehring, 1985). Изучение механизмов развития может пролить свет на такие глобальные эволюционные вопросы, как возникновение симметрии тела, закладка зародышевых слоёв, возникновение полости тела, эволюция скелетных и нервных систем и многие другие. В основе регуляции лежат молекулярные каскады, важными составляющими которых являются регуляторные гены и их продукты - транскрипционные факторы и компоненты межклеточного сигналинга. Зачастую составляющие регуляторных механизмов эволюционно консервативны. Одни из таких генов – гомеотические гены, контролирующие дифференцировку клеток и закладку органов вдоль орально-аборальной оси развивающегося зародыша.

Эволюция многоклеточных животных в первую очередь осуществляется посредством изменений в генетических программах развития и является результатом адаптивных изменений (Ogishima and Tanaka, 2007). Это неоднократно подтверждалось изучением регуляторных каскадов развития у Bilateria. Например, сравнительный анализ показал, что в регуляции развития зародыша *Drosophila melanogaster* участвуют гены, ортологичные *Mus musculus* (Chordata: Mammalia), которые экспрессируются схожим образом (Wray, 2003). Другим доказательством является анализ геномов представителей сестринских для билатеральных животных таксонов: *Amphimedon queenslandica* (Demospongiae: Porifera) (Srivastava et al, 2010), *Trichoplax adhaerens* (Placozoa) (Srivastava et al., 2008), *Nematostella vectensis* (Anthozoa: Cnidaria) (Putnam et al., 2008) и *Hydra vulgaris* (Hydrozoa: Cnidaria) (Chapman et al., 2010). Было показано, что большинство молекулярных каскадов Bilateria практически идентичны с таковыми у губок и книдарий, а регуляторные элементы схожи (Srivastava et al., 2008; Erwin, 2009). Таким образом, при изучении эволюции молекулярно-генетических механизмов развития важное значение приобретает сравнительное исследование одних и тех же механизмов у представителей сестринских к Bilateria групп, таких как, Porifera, Ctenophora, Placozoa и Cnidaria.

Развитие организма - это комплексный многоступенчатый процесс, регуляция которого чрезвычайно сложна. До последнего времени исследования процессов развития проводились, главным образом, на модельных организмах. Наиболее подробно исследованным модельным объектом биологии развития остаётся плодовая мушка *Drosophila melanogaster*. Одним из важных этапов развития дрозофилы является пространственная разметка зародыша, его регионализация вдоль основных осей тела. В

самом начале эмбриогенеза регуляция осуществляется генами материнского эффекта, неравномерно распределяющимися в яйце. Происходит регионализация зародыша и обособление клеточных доменов. Позже подключаются зиготические гены: гар-гены (гены пробела), разделяющие зародыш на функциональные территории. Гар-гены запускают экспрессию генов парности (pair-rule), которые будут разбивать широкие территории на более мелкие регионы. Результатом деятельности генов полярности является появление сегментов личинки, соответствующих взрослому организму. Возникновение различий между сегментами, появление индивидуального плана строения тела, дифференциация тканей и органов обуславливается работой гомеотических генов (Lewis, 1978; Nüsslein-Volhard, Wieschaus, 1980; Akam, 1987; Gilbert, 2010).

Гомеотические гены впервые были описаны Lewis E. B. в 1978 году у *Drosophila melanogaster* при изучении мутаций, которые приводили к появлению так называемых “гомеотипических трансформаций”, выражающихся в отсутствии некоторых сегментов или замене одних типов органов на гомологичные органы другого сегмента (Benjamin, 2005). Гены, определяющие парасегментарную идентичность у дрозофилы, организованы в двух комплексах: Antennapedia и Bithorax (Schummer et al., 1992). Одной из самых известных является мутация гена *Antennapedia*, который в норме отвечает за спецификацию структур второго грудного сегмента. Вследствие мутации у мухи на голове вместо антенн формируются конечности (Lewis, 1980). Гомеотическая мутация гена *Ultrabithorax* у дрозофилы (подавление активности гена *ultrabithorax*) приводит к образованию второй пары крыльев вместо жужжалец (Lewis, 1964; Lewis, 1978). Гены комплексов Antennapedia и Bithorax были названы по типу вызываемых ими мутаций гомеотическими. В конце XX века эти гены были идентифицированы у большинства животных.

Поскольку каждый из гомеотических генов *Drosophila melanogaster* необходим для создания одного или нескольких сегментов тела, Льюис выдвинул гипотезу о том, что гомеотические гены определяют многообразие сегментов (Lewis, 1978). Это хорошо иллюстрируется структурными и функциональными различиями сегментов тела членистоногих. Прimitивные членистоногие (например, Myriapoda) состоят из ряда идентичных сегментов, которые имеют отличия друг от друга лишь на переднем и заднем концах тела. Тело эволюционно продвинутых Arthropoda подразделяется на функционально отличающиеся тагмы: голова, грудь и брюшко. Вероятно, различия возникали в эволюции за счёт изменений характера экспрессии гомеотических генов Нох (Gehring, 1985; Averof and Akam, 1995; Cook et al., 2001; Hughes and Kaufman, 2002).

Гомеотические гены относятся к классу гомеобоксных генов. Гомеобоксные гены представляют собой большое семейство транскрипционных факторов, осуществляющих контроль генов-мишеней путем связывания с их *cis*-регуляторными сайтами. Отличительной особенностью гомеобоксных генов является наличие гомеобокса - консервативной последовательности из 180 пар нуклеотидов. Гомеобокс кодирует гомеодомен - особую аминокислотную последовательность, состоящую из 60 аминокислотных остатков, которая отвечает за связывание с ДНК (Scott et al., 1989; Gehring, 1993). Последовательности гомеодоменов очень схожи у разных организмов, особенно те участки, которые отвечают за связывание с регуляторным сайтом гена-мишени. При этом высокий уровень сходства наблюдается даже у филогенетически далеких групп животных. Так, например, гомеобоксный участок гена *LsHox1* немертинны *Linneus sanguineus* на 90% схож с последовательностью *AmphiHox1* ланцетника *Branchiostoma floridae* (Kmitu-Cunisse et al, 1998). Функциональная консервативность иллюстрируется экспериментами с заменой мутантного гена *labial* *Drosophila melanogaster* на его гомолог – *Hox-b1* цыпленка, при этом наблюдается нормальное развитие мухи (Lutz et al, 1996).

Структура гомеодомена представляет собой три α -спирали, две из которых антипараллельны, находятся на N-конце и принимают конформацию спираль-поворот-спираль. Такая структура свойственна большинству транскрипционных факторов, которые связывают ДНК в большой бороздке двойной спирали (Otting et. al., 1990; Percival-Smith et. al., 1990; Gilbert, 2010). Третья спираль находится на С-конце и перпендикулярна первым двум. Она связывается с ДНК и является спиралью узнавания (Корчагина и др., 2010).

В классификации гомеобоксных генов используют три уровня группировки: суперкласс, классы и семейства генов. Иногда добавляют промежуточные термины, такие как подкласс и подсемейство. Каждый ген с последовательностью гомеобокса является членом «суперкласса гомеобоксных генов». (Holland, 2013). Гомеобоксные гены встречаются почти у всех эукариот. У животных обнаружено более 100 семейств гомеобоксных генов, которые относятся к 11 классам: ANTP, PRD, TALE, POU, CERS, PROS, ZF, LIM, HNF, CUT, и SINE. У растений гомеобоксные гены подразделяются на 14 классов: HD-ZIP I, HD-ZIP II, HD-ZIP III, HDZIP IV, KNOX, BEL, PLINC, WOX, DDT, PHD, NDX, LD, PINTOX и SAWADEE (Holland et al., 2007; Mukherjee et al., 2009; Holland, 2013). У позвоночных найдено более 200 гомеобоксных генов, у беспозвоночных и низших хордовых – около 100 (Zhong et al., 2008; Zhong and Holland, 2011). Некоторые цветковые растения также имеют большое число гомеобоксных генов, например, более

100 у *Arabidopsis thaliana*, хотя большинство этих генов сильно отличаются от генов, найденных у животных (Mukherjee et al., 2009). Грибы и одноклеточные эукариоты экспрессируют менее 10 генов гомеобокса (Holland, 2013). У грибов эти гены также участвуют в клеточных дифференциациях и процессах развития (Bürglin, 2011; Mukherjee et al., 2009). Например, локусы, отвечающие за спаривание пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, являются гомеобоксными генами (Derelle et al., 2007). Гены класса TALE присутствуют у животных, растений и одноклеточных эукариот, таких как зеленые водоросли и амeboидные опистхонты *Capsaspora*. Кроме того, растительные и животные белки класса TALE имеют достаточное сходство последовательностей, что, по всей видимости, говорит об их общем происхождении (Bürglin, 1998; Mukherjee et al., 2009; Sebé-Pedrós et al., 2010).

Суперсемейство белков, содержащих гомеодомен, присутствует не у всех эукариот. У некоторых паразитических групп и внутриклеточных симбионтов гомеобоксные белки в геноме отсутствуют (Derelle et al., 2007). Не найдены гомеобоксные гены и у всех прокариот. Тем не менее, было отмечено, что пептид, представляющий собой гомеодомен, претерпевает такой же фолдинг, как и helix-turn-helix белки бактерий (Laughon and Scott, 1984). Поэтому, вероятно, можно считать, что гомеобоксные гены эволюционировали от древних генов, имеющих конформацию спираль-поворот-спираль. (Holland, 2013).

Изначально считалось, что у Bilateria гомеобокс-содержащие гены вовлечены в регулирование клеточных дифференцировок и процессы сегментации. В первых исследованиях акцентировалось внимание на том, что гомеобоксные гены отсутствуют у Cnidaria и могут быть найдены только среди Triploblastica (McGinnis, 1985). Позже было выяснено, что гомеотические гены имеются в геномах практически всех представителей Metazoa. Впервые у двуслойных организмов гомеобоксные гены были описаны в 1992 году A. Miles и D.J. Miller, однако авторы отрицали причастность этих генов к регуляции развития ввиду отсутствия сегментированности исследуемого организма.

Первыми несегментированными животными, у которых начали изучать гомеобокс-содержащие гены, стали Nematoda (Bürglin et al., 1989), Planaria (Garcia-Fernandez et al., 1991), Echinodermata (Dolecki et al., 1986) и Cnidaria (Murtha et al., 1991; Schierwater et al., 1991). Исследования нематоды *Caenorhabditis elegans* выявили метамерное расположение бластомеров вдоль переднезадней оси тела (Sulston and Horvit, 1977). Мутации в трёх разных гомеотических генах нарушают дифференцировку клеточных линий, отвечающие за образование определённых участков гиподермы, что приводит к изменению половой и нервной систем (Kenyon, 1986; Clark et al., 1993; Wang et al., 1993). Таким образом,

гомеотические гены отвечают не только за возникновение различий между сегментами и их правильную закладку, но и за развитие организма в целом.

Многие гомеобоксные гены играют важную роль в постэмбриональных процессах. Мутации в генах, экспрессирующихся на протяжении всей жизни организма, приводят к серьёзным аномалиям. Мутации гена PAX6 вызывают аниридию (отсутствие радужки глаза) (Glaser et al., 1992), мутация MSX2 ассоциирована с одной из форм краниосиностоза (раннее закрытие черепных швов, что приводит к уменьшению объема черепной коробки и её деформации) (Jabs et al., 1993), дефекты PAX3 обнаружены у пациентов с синдромом Ваарденбурга (наследственное заболевание, приводящее к комплексу аномалий, проявляющихся в искажении черт лица, нарушении пигментации, тугоухости) (Baldwin et al., 1994). Кроме того, по крайней мере три злокачественные опухоли человека обусловлены соматическими мутациями, вызванные изменениями в гомеобоксных генах (Rabbitts, 1994). Экспрессия гомеобоксных генов очень жёстко регулируется, что обеспечивает нормальный органогенез, однако нарушения работы приводят к изменениям в клеточных дифференциациях и возникновению заболеваний (Shah and Sukumar, 2010).

Самой большой группой гомеобоксных генов является класс ANTP, который включает около 100 генов у человека и других позвоночных и встречается только среди Metazoa (Holland et al., 2007; Zhong and Holland, 2011). Филогенетический анализ представителей всех классов гомеобоксных генов животных, простейших, грибов и растений, подтвердили монофилию класса ANTP (Galliot et al., 1999). Гены класса делят на 50 семейств, большинство из которых, по всей видимости, были у последнего общего предка Bilateria (Urbilateria). К ним относят Нох-гены, а также другие гены, участвующие в контроле развития: ParaHox, Evx, Dlx, En, NK4, NK3, Msx и Nanog (Takatori et al, 2008; Zhong et al., 2008; Holland, 2013).

Нох-гены представляют собой высоко консервативную группу генов класса ANTP и являются ключевыми регуляторами различных морфогенетических программ (Carroll et al., 2013). Семейство Нох-генов – это набор родственных генов, кодирующих факторы транскрипции. Они являются важными регуляторами развития и действуют согласованно друг с другом, чтобы определить идентичность сегментов вдоль передней-задней оси эмбриона. Считается, что каждый Нох-ген контролирует экспрессию множества генов-мишеней, которые могут числиться в сотнях (Mastick et al., 1995). Таким образом, активность одного гена Нох может быть достаточной для того, чтобы индуцировать целый «модуль развития» генов-мишеней, которые действуют согласованно, чтобы придать специфическую идентичность развивающему сегменту. Нох-гены вовлекаются в

определение переднезадней оси у многих многоклеточных животных, а также участвуют в направлении дифференциации клеточных судеб и спецификации различных частей тела (McGinnis and Krumlauf, 1992; Lawrence and Morata, 1994; Wang et. al., 2009; Friedrich et. al., 2016).

Регионализирующая функция Нох-генов считается анцестральной для всех Bilateria. Наглядным примером является корреляция их экспрессии с морфологическими отделами тела. У позвоночных и членистоногих смещение границ экспрессии влияет на архитектуру осевого скелета, изменение вида и функций конечностей. Тем не менее, данное правило не является универсальным. Существуют группы животных (Urochordata, Echinodermata, Nematoda), у некоторых видов которых упорядоченность структур тела задается инвариантностью клеточных линий. Работа Нох-генов у таких животных осуществляется на более низком уровне генетических программ развития. Эти гены определяют тип клеточной дифференцировки и направление клеточной спецификации (Arenas-Mena et al., 1998; Aboobaker and Blaxter, 2003; Seo et al., 2004; Ikuta et al., 2004; Бакаленко, 2014).

Помимо роли в эмбриональном развитии, где картина экспрессии Нох-генов может сохраняться длительное время, они задействованы во многих процессах, происходящих во взрослом организме, уже в отсутствии первоначального стимула (Brock and Fisher, 2005). Например, у позвоночных животных эти гены участвуют в гематопоезе, росте и обновлении волос, процессах заживления ран и регенерации (Awgulewitsch, 2003; Brun et al., 2004; Morgan, Whiting, 2008; Новикова, 2014). Кроме того, показано, что Нох-гены участвуют в регуляции образования центральной и периферической нервной системы, хорды, позвоночника и висцеральной мезодермы (Holland and Hogan, 1988; Prince et al., 1998; Krumlauf, 1993). Схожие локализации экспрессии прослеживаются и у *Drosophila melanogaster* (Andrew and Scott, 1992; Enriquez et al., 2010). У других животных, таких как ланцетник, асцидии, аннелиды, гемихордовые и моллюски, экспрессия Нох-генов наблюдается, в основном, в эктодерме и частично в клетках нервной системы (Holland and Garcia-Fernández, 1996; Fröblius, 2008). Таким образом, экспрессия Нох-генов в основном наблюдается в эктодерме и мезодерме.

На основе анализа аминокислотной последовательности маркерных участков гомеодомена выделяют четыре паралоговые группы (PG) Нох-генов: «передняя» группа (для хордовых PGs1-2, для насекомых - lab, pb), группа 3 (для хордовых PG3, для насекомых - zen/PG3), «центральная» группа (для хордовых PGs4-8, для насекомых – Dfd-abd-A), «задняя» группа (для хордовых PGs9-13, для насекомых - Abd-B) (Brooke et. al., 1998; Finnerty and Martindale, 1998).

Для некоторых билатеральных животных показана организация Нох-генов в кластеры. В пределах каждого кластера гены располагаются в строго определенном порядке, что является структурным свидетельством их общего происхождения (Lemons and McGinnis, 2006). В целом, для беспозвоночных характерно наличие одного Нох-кластера, целостного или разорванного (Aboobaker and Blaxter, 2003, Ferrier and Minguillon, 2003). Среди беспозвоночных и низших хордовых кластеры Нох-генов были обнаружены у *Drosophila melanogaster* и других насекомых (Duboule and Dolle, 1989; Beeman, 1987; Ueno et al., 1992; Ferrier and Akam, 1996), нематод (Burglin et al., 1991), ленточных червей (Kmita-Cunisse et al., 1998), ланцетника (Garcia-Fernàndez and Holland, 1994) и морских ежей (Popodi et al., 1996; Martinez et al., 1999). У первичноротых чаще всего встречается один кластер Нох-генов (De Rosa et al., 1999). Среди вторичноротых число кластеров варьирует от одного (как у морского ежа, ланцетника) до восьми у некоторых позвоночных (костистые рыбы) (Arenas-Mena et al., 1998; Mayer and MalagaTrillo, 1999; Ferrier et al., 2000). Для небилатерий кластерная организация Нох-генов показана у *Nematostella vectensis* (Finnerty and Martindale, 1998). Эти данные позволяют предположить, что кластеризация Нох-генов - древнее явление (Ferrier and Holland, 2001). Однако встречаются виды, у которых кластерная организация не обнаружена. Наличие кластеров гена Нох у представителей многих неродственных таксонов и отсутствие кластеров у близких групп может указывать на то, что у предка Bilateria Нох-гены были организованы в кластер, впоследствии кластерная организация либо поддерживалась, либо терялась (Duboule, 2007).

Число генов в одном кластере может быть от шести, как у *Caenorhabditis elegans*, до четырнадцати у ланцетника (Бакаленко и др., 2004). Кластерная организация Нох-генов Bilateria отличается не только по составу генов, но и по структурным характеристикам. Кластеры Нох-генов позвоночных характеризуются компактностью, целостностью, отсутствием разрывов и инверсий, все гены считываются последовательно от 3' к 5'-концу. У других животных кластеры могут быть менее упорядочены. Например, Нох-кластер морского ежа имеет повторы и инверсии, гены ориентированы в разных направлениях (Бакаленко, 2014). Кластер *Drosophila melanogaster* разорван на два локуса (Scott et al., 1983). Насекомые имеют большие, чем у позвоночных животных размеры Нох-кластеров. В них содержатся многочисленные повторы, а внутри кластеров показано наличие не гомеобоксных генов (Бакаленко, 2014). Асцидия *Ciona intestinalis* имеет кластер, разорванный на пять частей (Ikuta et al., 2004). Хаотичное расположение генов Нох-кластера наблюдается у аппендикулярии *Oikopleura dioica* (Seo et al., 2004). Среди Lophotrochozoa кластерная организация, отсутствие вставок не гомеобоксных генов и 3'-

5'-ориентация показана только у аннелид на примере полихет *Capitella teleta* и *Alitta virens* (Andreeva et al., 2001; Fröblius et. al., 2008).

После того, как кластерная организация была показана на *Drosophila melanogaster* (Akam, 1989), появилось предположение о том, что у всех других видов животных Нох-гены будут организованы в кластер (Duboule, 2007). Многие публикации сообщают о существовании у некоторых видов кластерной организации Нох-генов, однако вполне возможно, что они содержат изолированные гены Нох или фрагменты кластеров. После того, как у многих беспозвоночных животных не удалось обнаружить Нох-гены, организованные в кластеры, возникла другая гипотеза, согласно которой организация в кластеры появлялась совместно с усложнением организации животных. В пользу этого говорит то, что самая плотная организация Нох-генов обнаружена у позвоночных. В таком случае, наличие настоящих кластеров у многих животных ставится под сомнение.

Нох-генам свойственно явление коллинеарности экспрессии, при котором первый Нох-ген считывается с 3'-конца ДНК и работает в передней части зародыша, тогда как гены на 5'-конце экспрессируются последними и регулируют процессы на заднем конце развивающегося эмбриона. Впервые коллинеарность экспрессии Нох-генов была обнаружена у *Drosophila melanogaster* (Lewis, 1978). Позже это было показано и на других животных. Пространственная коллинеарность экспрессии обычно сохраняется и в случаях разрыва Нох-кластеров за счёт внедрения не гомеобоксных генов, а также в случаях расположения генов на разных хромосомах. Таким образом, коллинеарность не скоррелирована с кластерным расположением генов. У асцидий наблюдается некоторый уровень координации в экспрессии Нох-генов, несмотря на отсутствие кластеризации (Seo et al., 2004; Monteiro and Ferrier, 2006). За экспрессию генов в правильном порядке отвечают регуляторные области, которые активируют Нох-гены в нужное время в определённой части зародыша (Корчагина и др, 2010). Коллинеарная экспрессия Нох-генов в ходе формирования нектохеты указывает на принципиальное единство генетических программ развития между Deuterostomia, Ecdysozoa и Lophotrochozoa, что подтверждается анализом 18S рРНК (Gould, 2002; Garcia-Fernandez, 2005; Ryan et al., 2007; Андреева и Кулакова, 2008).

Для некоторых животных показано, что момент начала экспрессии Нох-генов в эмбриогенезе соотносится с положением на хромосоме. Это явление носит название временной коллинеарности (Izpisua-Belmonte et al., 1991; Akam, 1998; Kmita and Duboule, 2003). Временная коллинеарность на данный момент продемонстрирована для некоторых аннелид и не отмечена у *Drosophila melanogaster* (Fröblius et al., 2008).

Считается, что кластер Нох возник за счёт тандемных дупликаций из одного ProtoНох-гена. Наиболее вероятно, что это и последующие дублирования произошли из-за неравного кроссинговера между гомологичными хромосомами при мейозе (Gehring et al., 2009, Lewis, 1997). Особенностью каждого такого дублирования является то, что два похожих фрагмента ДНК оказываются рядом в одной ориентации на одной и той же хромосоме (Gaunt, 2015). На основе сравнения консервативных последовательностей гомеодомена Нох-белков, был описан минимальный набор генов Нох у предка всех Metazoa (Miller and Miles, 1993, Gehring et al., 1994). Считается, что гипотетическая анцестральная группа, называемая ProtoНох, состояла, по крайней мере, из 7 генов и контролировала развитие вдоль передне-задней оси у общего предка Bilateria и Cnidaria (Holland, 2001).

Существует корреляция между количеством Нох-генов и сложностью строения организма. Сравнение Нох-генов ланцетника и позвоночных позволило выявить дублирование генов и тетраполиплоидизацию генома на ранних этапах эволюции хордовых (Sharman and Holland, 1995; Ferrier and Holland, 2001; Gilbert, 2010). Заметное увеличение количества Нох-генов у рыб представляет собой результат дополнительной дупликации четырёх групп генов, обнаруженных у амфибий, птиц и млекопитающих. Вероятно, именно это событие привело к вспышке видообразования у данной группы (Holland, 1998; Pennisi, 2001; Ferrier and Holland, 2001; Taylor et al., 2001; Hoegg et al., 2004).

Почти сразу после того, как были обнаружены Нох-гены, возник вопрос: как белки с одинаковыми доменами могут иметь разные функции? Большинство транскрипционных факторов являются членами крупных белковых семейств, которые обладают очень сходными свойствами связывания ДНК, но имеют различные функции *in vivo*. Это явление носит название «Нох-парадокс» (Wagner et al., 2003). Несмотря на консервативность Нох-генов, существуют несколько путей, приводящих к возникновению новых функций этих генов.

1. Изменение в работе может осуществляться за счёт потери, приобретения или смены регуляторов Нох-генов – так называемая регуляция на вышележащем уровне (upstream-регуляция). Новые функции могут возникать в результате изменений в регуляторных областях Нох-генов, а также в характере экспрессии транскрипционных факторов, которым эти гены подконтрольны. В результате экспрессия гена смещается относительно переднезадней оси, что приводит к фенотипическим изменениям (Бакаленко и др., 2004). Так, например, у жаброногого рачка *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda) экспрессия гена *ubx* маркирует границу между головными и торакальными сегментами. У

других ракообразных передняя граница экспрессии *ubx* сдвигается к заднему концу тела. У некоторых представителей Malacostraca и Maxillopoda это приводит к тому, что несколько пар торакальных конечностей видоизменяются и несут функции придатков для захватывания пищи (Averof and Patel, 1997; Бакаленко и др., 2004).

2. Другим вариантом регуляция Нох-генов может выступать регуляция на ниже лежащем уровне (downstream-регуляция). Как уже упоминалось ранее, для связывания в ядре клетки транскрипционного фактора со специфичным сайтом гена-мишени, необходимо образование комплексов белков. В данном случае осуществляется изменение структуры самого Нох-белка или кофактора, с ним взаимодействующего, или, как правило, вследствие мутации сайта связывания мишени с Нох-белком (Бакаленко и др., 2004). Такие изменения могут играть важную функцию в эволюции. В качестве примера можно привести превращение второй пары крыльев у представителей отряда Diptera в гальтеры вместо крыльев на третьем торакальном сегменте и к возникновению морфологических различий передних и задних крыльев у бабочек (Insecta: Lepidoptera). Эти модификации связаны с возникновением сайтов связывания для гена *ubx* в последовательностях генов, отвечающие за формирование крыла (Carroll et. al., 2013). Свидетельством таких изменений служит появление атавизмов в процессе экспериментальных исследований (Gilbert, 2010).

3. Также некоторые транскрипционные факторы могут влиять друг на друга. В качестве примера можно привести постериорную супрессию. Это явление заключается в способности белка одного из Нох-генов подавлять функцию другого Нох-гена, который будет экспрессироваться позднее (Struhl et. al., 1985). Примером постериорной супрессии является мутация гена ANTP, приводящая к появлению на голове плодовой мушки ходных конечностей (Gilbert, 2000). Если положение генов изменяется вследствие делеции или дупликации, то в разных отделах тела будут работать разные белковые продукты, что в итоге может привести к появлению новых фенотипов (Kmita et al., 2002).

В приведённых выше примерах изменения работы генов осуществляются в пределах одной регуляторной сети. В то же время возможно и появление новых сетей, в которых используются уже существующие гены (Бакаленко и др., 2004). Например, было выяснено, что ген *bicoid*, маркирующий передний конец зародыша дрозофилы, возник из гена *Hox3* (Stauber et. al., 1999). Также для Нох-генов человека была показана регуляция некодирующими РНК. Один из таких генов, *HOTAIR*, снижает уровень транскрипции гомеотических генов, связываясь с белками группы Polycomb. Он транскрибируется с кластера HOXC и ингибирует поздние HOXD гены (Rinn et. al., 2007). Молекулы

микроРНК в большей степени ингибируют передние гомеозисные гены, вероятно, для более точной регуляции их экспрессии (Lempradl and Ringrose, 2008).

Для корректной работы транскрипционных факторов необходимо взаимодействие с кофактором. В качестве кофакторов для Нох-белков выступают такие транскрипционные факторы, как PBC- и HMP-белки, относящиеся к классу гомеодоменсодержащих белков TALE (Ladam, Sagerström, 2013). Кофактор EXD у *Drosophila melanogaster* опосредует феномен постериорной супрессии, когда более поздний ген подавляет на своей территории экспрессию более раннего, что объясняется большим сродством постериорных белков к кофакторам (Noro et al., 2011). Другой кофактор напрямую взаимодействует на EXD, что также влияет на работу Нох-генов (Gebelein, et al, 2002). За тонкую регуляцию распознавания регуляторных последовательностей отвечает домен YPWM, который взаимодействует с кофакторами (Новикова, 2014). С помощью метода FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) было показано, что после попадания в ядро, Нох-белки хаотично взаимодействуют с разными сайтами связывания в поисках подходящего. Комплексы белка с неспецифичной последовательностью быстро распадаются, в то время как после присоединения к сайту-мишени ген остаётся в связке на время, необходимое для активации или репрессии гена (Gehring, 2011). Это говорит о низкой специфичности Нох-белка к гену-мишени. Также специфичность связывания повышает взаимодействие Нох-генов с другими транскрипционными факторами.

Нох-гены зачастую имеют домены более схожие с доменами генов других семейств, чем внутри семейства. Наиболее близкими по структуре являются GSX, XLOX (= PDX), CDX, MOX и EVX семейства класса ANTP (Holland, 2013). Это приводит к тому, что гены внутри класса трудно отличить друг от друга и правильно классифицировать. Было обнаружено, что гены GSX, XLOX и CDX расположены в отдельно обособленной группе генов на хромосомах ланцетника и нескольких видов позвоночных (Brooke et al., 1998). Этой группе дали название ParaНох, что отражает предполагаемую сестринскую связь с группой генов Нох. Позже ParaНох-гены были найдены и у других видов животных (Akam, 1995; De Rosa et. al., 1999).

Гены ParaНох представлены тремя группами: GSX (genomic screened homeobox), XLOX (*Xenopus laevis* homeobox 8/insulin promoter factor 1) и CDX (caudal type homeobox). Гены GSX более тесно связаны с Нох-генами передней группы, чем с другими генами ParaНох; XLOX больше похож на группу Нох, а CDX схож с Нох-генами «задней» группы (Brooke et al., 1998). ParaНох гены по-видимому, участвуют преимущественно в формировании энтодермы (Holland, 1998; Brooke et al., 1998; Holland, 2001). Для генов группы XLOX показана энтодермальная экспрессия (Arnone et al., 2006; Fröblius and

Seaver, 2006), но этот ген также имеет и нейронную экспрессию у *Nereis* (Kulakova et. al., 2008) и *Branchiostoma* (Brooke et al., 1998). До настоящего времени гены группы XLOX не описаны у Ecdysozoa и Cnidaria (Chiori et. al., 2009). Кластерная организация ParaНох-генов была показана для *Amphioxus* (Cephalochordata: Leptocardii) и двух видов млекопитающих (мышь и человек (Minguillon et. al., 2003)) и не обнаружена у других исследованных видов Deuterostomia (Arnone et. al., 2006; Ferrier and Holland, 2002), а также отсутствует в геномах Protostomia (Ruvkun and Hobert, 1998). Таким образом, кластеризация ParaНох могла возникнуть вторично у хордовых путем интеркаляции XLOX между GSX и CDX (Chiori et. al., 2009).

Тип Cnidaria или кишечнополостные представляет собой сестринскую группу по отношению к Bilateria (Collins, 1998; Kim et al., 1999). Несмотря на широкое разнообразие жизненных форм, обе группы задействуют схожие генетические механизмы для регуляции процессов развития. Для Cnidaria характерно чередование поколений, а также разнообразие жизненных циклов в пределах этого типа. Жизненный цикл протекает по типу метагенеза: одиночный полип образует свободноплавающих эфир путём бесполого размножения, в свою очередь, вырастая, эфиры превращаются в медуз, которые размножаются половым путем, продуцируя личинок – планул, планулы после оседания на дно дают начало новым полипам (Bridge et al., 1995). У многих кишечнополостных могут выпадать некоторые стадии, что является характеристикой отдельных классов. Стадия свободноплавающей медузы присутствует в трёх из четырёх классов: Hydrozoa, Cubozoa и Scyphozoa. Эти три класса часто объединяют в группу Medusozoa. Также для полипов характерны процессы почкования. Класс Anthozoa, в котором отсутствует стадия медузы, является сестринской группой к остальным Cnidaria и образует группу Amedusozoa.

Было показано, что книдарии, как и билатерии обладают генами Нох-кластера (Gauchat et. al., 2000; Finnerty et. al., 2004; Chourrout et. al., 2006; Ryan et. al., 2007). Тем не менее, в современной научной литературе до сих пор не существует единого мнения относительно наличия (Gauchat et. al., 2000; Finnerty et. al., 2004; Ryan et. al., 2007) или отсутствия (Kamm et. al., 2006; Chourrout et. al., 2006) «задних» Нох-генов в геномах Cnidaria. Вероятно, общий предок Cnidaria и Bilateria обладал Нох-генами «передней» группы и ParaНох-генами GSX, но не имел группу 3 и «центральные» Нох-гены (Gauchat et. al., 2000; Ryan et. al., 2007; Finnerty, 2001). В соответствии с этим сценарием, Metazoa потеряли «центральный» ParaНох ген, в то время как Cnidaria потеряли «центральные» гены в кластерах как Нох-, так и ParaНох-генов (Hill et. al., 2003). Помимо хорошо описанных классов гомеобокс-содержащих генов, у Cnidaria имеются Нох-гены неясной классификации (Quiquand et. al., 2009).

Существует несколько вариантов классификации Нох-подобных генов у кишечнополостных (Schummer et al., 1992; Kuhn et al., 1996; Ferrier and Holland, 2001; Chourrout et al., 2006; Ryan et al., 2006; Holland et al., 2007). Согласно одному из вариантов, у Cnidaria имеются две группы Нох-подобных генов: группа Нох-генов (HOX1, HOX2 и HOX9-14 из подгрупп А, В и С) и ParaHox (CDX и GSX) (Chiori et. al., 2009). Количество и принадлежность к тем или иным группам Нох у разных групп книдарий может существенно различаться.

В классе Hydrozoa Нох-гены описаны у широкого круга представителей (Schierwater et al., 1991; Murtha et al., 1991; Schummer et al., 1992; Naito M. et al., 1993; Aerne et al., 1995; Kuhn et al., 1996; Mokady O. et al., 1998; Cartwright et al., 1999; Masuda-Nakagawa et al., 2000; Gauchat et al., 2000; Yanze et. al., 2001; Shenk et al., 2005; Kamm et. al., 2006; Chourrout et al., 2006; Jakob and Schierwater, 2007; Chiori et. al., 2009; Sanders and Cartwright, 2015; Reddy et al., 2015). Также, большое число исследований посвящено Нох-генам у представителей Anthozoa (Miller and Miles, 1993; Hayward et al., 2001; Kwong et al., 2002; Finnerty et. al., 2004; Kamm et. al., 2006; Ryan et al., 2007). Наиболее исследованными объектами являются *Nematostella vectensis* (Cnidaria: Anthozoa) и *Hydra magnipapillata* (Cnidaria: Hydrozoa). Исследования гомеобокс-содержащих генов классов Hydrozoa и Anthozoa позволили предположить, что Нох-гены начали эволюционировать до обособления ветвей Cnidaria и Bilateria, а функция регуляции развития вдоль орально-aborальной оси тела имела уже у общего предка (Kuhn et. al., 1999).

Nematostella vectensis и *Hydra magnipapillata* обладают «центральными» и «задними» генами, не гомологичными таковым у билатерий. У *Hydra vulgaris* *Cnox-1*, *Cnox-2* и *Cnox-3* не образуют единого кластера и экспрессируются в районе головы. При изучении процессов регенерации было показано, что *Cnox-1* экспрессируется как ранний ген независимо от полярности, тогда как *Cnox-2* подключался позднее и участвовал в регенерации головы, но не ноги. Наконец, *Cnox-3* экспрессировался в полностью восстановленной голове. Эти результаты свидетельствуют о том, что Нох-гены *Hydra vulgaris*, участвуют на разных стадиях апикальной дифференцировки (Gauchat et al., 2000). *Cnox-4* отсутствует в геноме *Hydra vulgaris*, а *Cnox-5* является аналогом Мох у Triploblastica, поэтому визуализация этих генов показана не была (Naito et al., 1993; Gauchat et. al., 2000).

В геноме *Nematostella vectensis* имеется пять Нох-генов (Finnerty et. al., 2004). Три гена связаны с «передними» генами Нох (*Anthox6*, *Anthox7* и *Anthox8*), тогда как оставшиеся два связаны с «задними» генами Нох (*Anthox1* и *Anthox1a*) (Finnerty and Martindale, 1997; Finnerty and Martindale, 1998; Finnerty and Martindale, 1999). Помимо

Нох-генов у морского анемона найдены два кластера ParaНох-генов: GSX и ген, связанный с XLOX и CDX (Kamm et. al., 2006; Chourrout et. al., 2006; Ryan et. al., 2007). Экспрессия Нох-генов наблюдается как в энтодерме, так и в эктодерме. *Anthox1* экспрессируется на аборальном поле на ранних стадиях развития зародыша. После гастрюляции у двухслойной личинки планулы экспрессия *Anthox1* ограничивается небольшим участком эктодермальных клеток аборального полюса. Во время стадии гастрюлы *Anthox1a*, *Anthox7* и *Anthox8* экспрессируются главным образом в энтодерме вблизи бластопора. Позже экспрессия *Anthox1a* и *Anthox8* распространяется в энтодерму глотки. *Anthox6* экспрессируется исключительно во внешнем энтодермальном слое глотки (Finnerty et. al., 2004).

Предположение о том, что Нох-гены Cnidaria играют роль в формировании орально-аборальной оси, первоначально было вызвано прямым сравнением экспрессии Нох-генов, полученных на примере *Nematostella vectensis* (Cnidaria: Anthozoa), с известными ортологами видов Bilateria (Finnerty et. al., 2004; Martindale, 2005; Ryan et. al., 2007). Такие выводы были сделаны после того, как, была показана гомология передне-задней оси Bilateria и орально-аборальной оси *Nematostella vectensis* (Finnerty et. al., 2004; Martindale, 2005; Ryan et. al., 2007), а также показана коллинеарность экспрессии Нох-генов у морского анемона. Эти данные были использованы в качестве доказательства существования явления коллинеарности Нох-генов у предка Cnidaria и Bilateria и, как следствие, у всех представителей кишечнополостных (Ryan et. al., 2007). На данный момент известно, что коллинеарность у некоторых видов Cnidaria экспрессии Нох-генов отсутствует (например, *Clytia*, *Podocoryne* и *Eleutheria*) (Kamm et. al., 2006; Chiori et. al., 2009).

Внутри Cnidaria число семейств генов Нох, по-видимому, различается между отдельными группами (Chiori et. al., 2009). Это может быть связано с множественными и независимыми событиями дублирования, которые приводят к увеличению количества генов в определенных семействах. Вероятно, в каждом из основных классов Cnidaria происходили специфические дублирования. Гены группы NOX9-14C были независимо продублированы у Scyphozoa и Hydrozoa, кроме того, несколько дубликаций произошло в группе NOX2 у Anthozoa.

В процессе эволюции некоторые Нох-гены могли и теряться у отдельных представителей Cnidaria (Kuhn et al., 1996). Некоторые гомеобокс-содержащие гены *Clytia hemisphaerica* не были найдены у других стрекающих (Chiori et. al., 2009). Гены NOX2 отсутствуют в полном геноме *Hydra magnipapillata* и не были идентифицированы у других видов Hydrozoa или Scyphozoa и были найдены только у актинии *Nematostella vectensis*.

Это можно считать признаком того, что гены HOX2 были потеряны у предка Medusozoa. Аналогично, морские анемоны, вероятно, потеряли свой ген HOX9-14A, группу, которая описана только у Hydrozoa. Несмотря на то, что группы HOX1, HOX2, HOX9-14A и CDX отсутствуют у Scyphozoa, эти отклонения могут быть вызваны недостаточной изученностью данной группы.

У Cnidaria Нох-гены выполняют различные функции. Например, было продемонстрировано, что у *Hydra vulgaris* *Cnox2* экспрессируется в бипотентных нейронных предшественниках, приводящих к возникновению нематоцитов и апикальных нейронов (Miljkovic-Licina et al., 2007), а также у Anthozoa (*Nematostella* (Finnerty et al., 2003) и *Acropora* (Hayward et al., 2001)). Экспрессия GSX, по-видимому, ограничивается популяциями нейронов (Chiori et. al., 2009). Энтодермальная экспрессия GSX наблюдалась только у *Clytia*, у *Eleutheria* на стадии медузы, в плануле *Podocoryne* (Yanze et. al., 2001; Jakob and Schierwater, 2007; Chiori et. al., 2009).

Среди Scyphozoa Нох-гены были исследованы только у одного представителя: *Cassiopeia xamachana* (Kuhn et. al., 1999). Авторами были выделены пять Нох-генов: *Scox-1* - *Scox-5*. Четыре из пяти генов показывают тесную связь с ранее описанными генами *Cnox-1* Hydrozoa и Anthozoa. Один ген *Scox-2* является гомологом генов *Cnox-2*, известных у Hydrozoa и Anthozoa, а также у Placozoa. В настоящий момент характер экспрессии Нох-генов представителей Scyphozoa остаётся неясным.

Изучение молекулярных каскадов сестринских по отношению к Bilateria таксонов необходимо для понимания ранних этапов эволюции многоклеточных животных. Одними из важных регуляторов развития являются Нох/ParaНох-гены. Среди кишечнополостных в этом отношении наиболее изучены представители классов Hydrozoa (*Hydra vulgaris*, *Clytia hemisphaerica*) и Anthozoa (*Nematostella vectensis*). В то же время данные по крупному таксону Scyphozoa практически отсутствуют. Расширение круга изучаемых объектов базальных на филогенетическом дереве клад животных позволит реконструировать эволюцию гомеобокс-содержащих генов и приблизиться к пониманию эволюции процессов развития.

Материалы и методы.

Материалом для данного исследования стала лабораторная линия сцифистом *Aurelia aurita*: «Roscoff», полученная из морского аквариума французской биостанции города Роскоф. Сцифистомы содержатся в пластиковых контейнерах 30×15 см в искусственной морской воде солёностью 30‰ при температуре +18°C. Два раза в неделю производится смена воды. Кормление осуществляется раз в два дня науплиусами рачка *Artemia salina*.

В лабораторных условиях, помимо культивируемых сцифистом, легко искусственно получить стадии стробилы и эфиры. Для индуцирования процесса стробилиации полипов отсаживали в чашку Петри диаметром 90мм, после чего добавляли 5мМ спиртовой раствор 5-метокси-2-метилиндола в соотношении 1:1000. Следовательно, финальная концентрация индуктора в воде составляла 5 мкМ/мл (Fuchs et al, 2014). Через сутки производили смену воды. В работе были использованы следующие стадии жизненного цикла *A. aurita*: одиночный полип, полип, формирующий почки, ранняя стробила, поздняя стробила, эфира (рис. 1).



Рисунок 1. Различные стадии жизненного цикла *Aurelia aurita*, полученные из лабораторной культуры: А – сцифистома, Б – ранняя стробила, В – поздняя стробила, Г – эфира. Масштабная линейка – 1 мм.

Поиск нуклеотидных последовательностей производили с использованием закрытой транскриптомной базы данных *Aurelia aurita* Compagen (compagen.org/aurelia) с помощью алгоритма tblastx. Найденные последовательности сравнивали с помощью алгоритма tblastn с гомологичными генами в базе данных GenBank NCBI (ncbi.nlm.nih.gov). Определение рамки считывания производили с помощью ресурса EMBOSS Transeq (ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/). Проверку доменного состава осуществляли с помощью ресурса SMART (smart.embl-heidelberg.de/) или NCBI.

Последовательности гомеодомена *Aurelia aurita* были выравнены с последовательностями гомеодоменов других Cnidaria и некоторых Bilateria, полученных из базы данных GenBank NCBI с помощью алгоритма tblastn. Матрица содержала 51 ген кишечнотелостных, и была дополнена 1 геном Трох-2 *Trichoplax adherens* близкого к Нох-генам семейства. Матрица содержала аминокислотные последовательности гомеодомена из трех основных групп Cnidaria: Anthozoa, Scyphozoa и Hydrozoa. В неё вошли: *Acropora millepora* (Cnidaria: Anthozoa) и *Metridium senile* (Cnidaria: Anthozoa), *Cassiopeia xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa), *Eleutheria dichotoma* (Cnidaria: Hydrozoa), *Podocoryne carnea* (Cnidaria: Hydrozoa), *Hydractinia symbiolongicarpus* (Cnidaria: Hydrozoa) и несколько видов Hydra (Cnidaria: Hydrozoa) (*Hydra magipapillata*, *Hydra vulgaris* и *Hydra viridis*). Номера последовательностей приведены в приложении 3. В качестве внешней группы использовали 13 последовательностей компонентов Wnt-каскада билатеральных животных.

Филогенетический анализ ML (Maximum Likelihood) проводили с использованием программы MEGA. Модель замещения аминокислот - LG, 8 категорий замещающих показателей с оценивающим параметром распределения гамма с сохранением всех сайтов. Статистическую поддержку оценивали 500 повторов bootstrap (рис. 6).

Подборку праймеров к найденным Нох-последовательностям *Aurelia aurita* проводили вручную. Температуру плавления, проверку отсутствия шпилек, комплементарности между прямыми и обратными праймерами проверяли с использованием олигокалькулятора, расположенного на сайте bio.bsu.by/molbiol/oligocalc.html. Последовательности праймеров приведены в приложении 1.

Для подтверждения наличия найденных последовательностей в лабораторной линии *A. aurita* синтезировали кДНК. Для этого со стадий полипа, эфиров и стробилы проводили тотальную экстракцию РНК с помощью набора для выделения РНК ZymoResearch Quick RNA (R1057T). Выделение проводили в соответствии с протоколом производителя. Синтез одноцепочечной, а затем и двуцепочечной кДНК осуществляли с помощью набора Mint (Евроген) в соответствии с протоколом производителя (SK001 или SK005) (рис. 2).

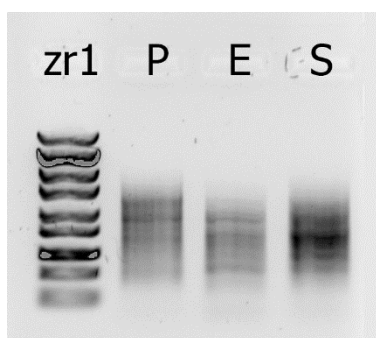


Рисунок 2. Электрофорез двуцепочечных кДНК различных стадий стробилизации *A. aurita*.

zr1 - маркер ZipRuler 1, P, E, S – ДНК со стадий полипа, эфиры и стробилы

Амплификацию целевых фрагментов на матрице кДНК (смесь из двуцепочечных кДНК со стадий полипа, стробилы и эфиры) проводили с использованием ПЦР-премикса Evrogen ScreenMix (PK041S). После подтверждения наличия целевых генов в *Aurelia aurita* лабораторной линии, производили препаративную ПЦР для получения большого количества фрагмента ДНК с последующей трансформацией в бактериальных клетках, объем смеси составлял 100 мкл. Продукт амплификации анализировали с помощью геле-электрофореза. Выделение ДНК производили с помощью набора Zymo Research DNA Clean & Concentrator-5 (D4013). Концентрацию очищенной ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen). После осуществляли лигирование полученных фрагментов с вектором pGEM®-T Easy (Promega), либо Qiagen pDrive (Qiagen) в соответствии с протоколом производителя. Для трансформации были использованы клеточные линии JM109 (Promega). Химическую трансформацию проводили с использованием реактивов набора InsT/Aclone (Fermentas). Дальнейший отбор клонов со встроенным вектором проводили с помощью стандартного метода бело-голубой селекции, на среде, содержащей XGal и IPTG. Колонии белого цвета пересекали на размеченные чашки Петри со средой, содержащей ампициллин. Каждую колонию проверяли на наличие встроенного фрагмента методом ПЦР со специфическими праймерами. После выбранные колонии выращивали в суспензионные культуры. Выделение плазмид из суспензионных культур осуществляли с использованием набора ZymoResearch ZRPlazmid MiniPrep Classic (D4015) согласно протоколу производителя.

Проверку последовательности, а также направления её встраивания в плазмиды проводили методом секвенирования с использованием оборудования Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного Парка СПбГУ. Помимо этого, осуществляли дополнительную проверку методом аналитической ПЦР с праймерами к промоторным последовательностям для РНК полимераз T7 и SP6 и прямого праймера к целевой последовательности. В зависимости от направления вставки выбирали ту или иную РНК-полимеразу.

Выделенные плазмиды использовали в качестве матрицы для препаративной ПЦР с праймерами M13. Полученные таким образом ПЦР-фрагменты использовали в свою очередь, в качестве матрицы для синтеза РНК-зондов. С помощью набора Cleanup Mini (Евроген) ПЦР-фрагмент очищали и концентрировали. Синтез антисмысловых РНК-зондов проводили с использованием РНК-полимераз T7 или SP6 (Fermentas) и меченых дигоксигенином нуклеотидов (Roche) согласно протоколу производителя. После синтеза проводили обработку ДНКазой I (Fermentas) в течение 15 минут при +37°C, качество зонда проверяли методом агарозного гель-электрофореза (рис. 3). Синтезированные зонды хранили при температуре -20°C.

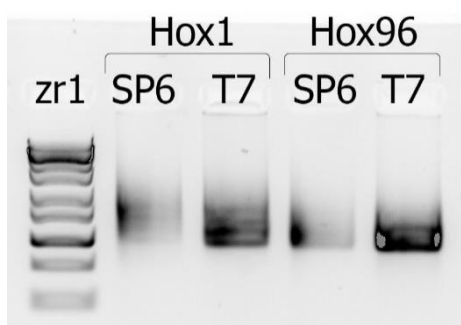


Рисунок 3. Электрофорез синтезированных зондов для *in situ* гибридизации: zr1 – маркер ZipRuler 1, Hox1, Hox96 – зонды к целевым генам, синтезированные с использованием SP6 и T7 полимераз

Перед РНК-гибридизацией *in situ* проводили фиксацию животных. Сцифистомы, стробилы и эфиры анестезировали в 7% растворе $MgCl_2$ до полного расслабления их мускулатуры. Степень расслабления проверяли отсутствием реакции на укол препаровальной иглой. Объекты фиксировали в 4% растворе параформальдегида на морской воде с пониженной солёностью (26‰) при +4°C в течение 12 часов, после фиксатор заменяли на метанол и хранили при температуре -80°C.

Визуализацию паттернов экспрессии целевых генов проводили методом РНК-гибридизации *in situ* с помощью синтезированных зондов. Протокол РНК-гибридизации, адаптированный для *A. aurita* представлен в приложении 4. В качестве отрицательного контроля использовали образцы без добавления зондов (рис. 5). Для положительного контроля брали зонды к последовательности гена RF-амида, паттерн экспрессии которого хорошо изучен (Nakanishi et al, 2009) (рис. 4).

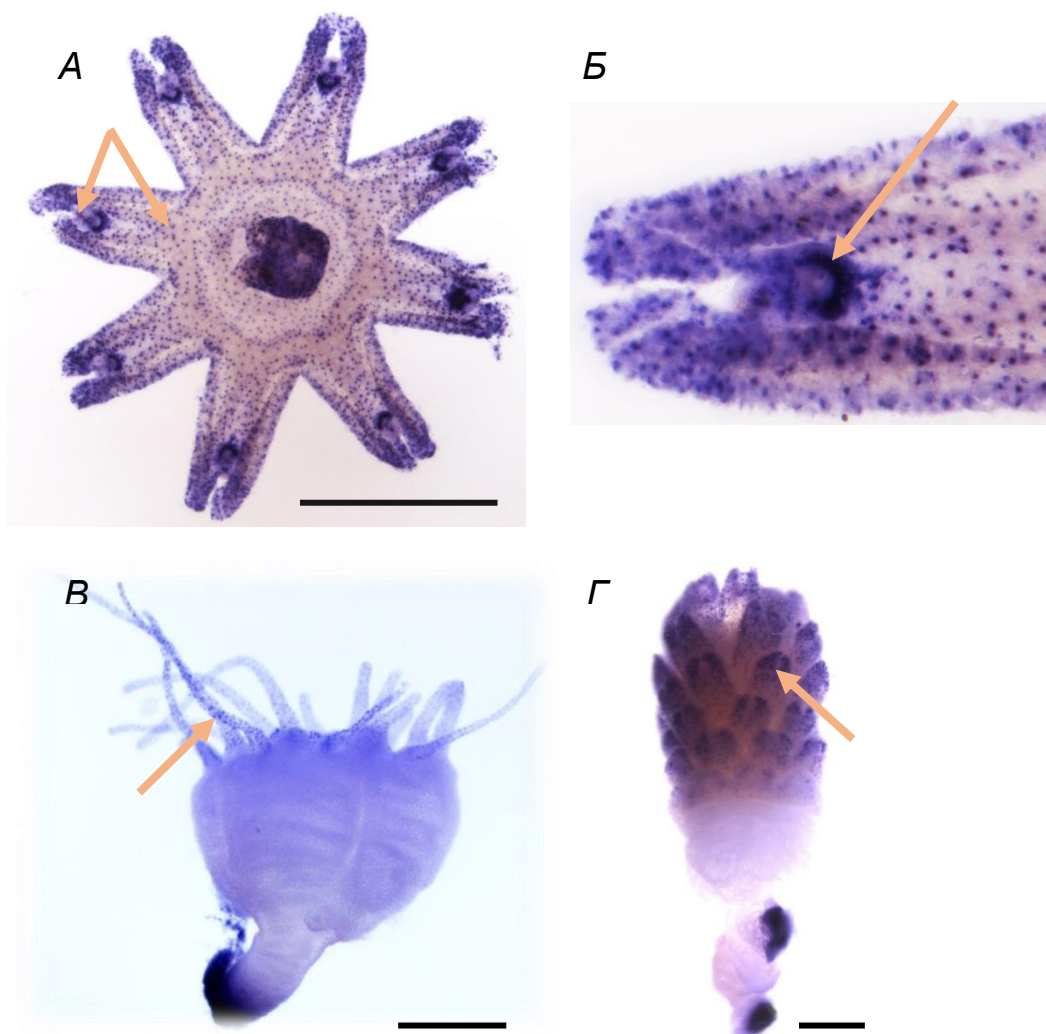


Рисунок 4. Гибридизация *in situ*, RF-амид. А, Б - эфира, В – сцифистома, Г – поздняя стробила. Стрелками обозначены некоторые участки экспрессии гена. Масштабная линейка - 1 мм.

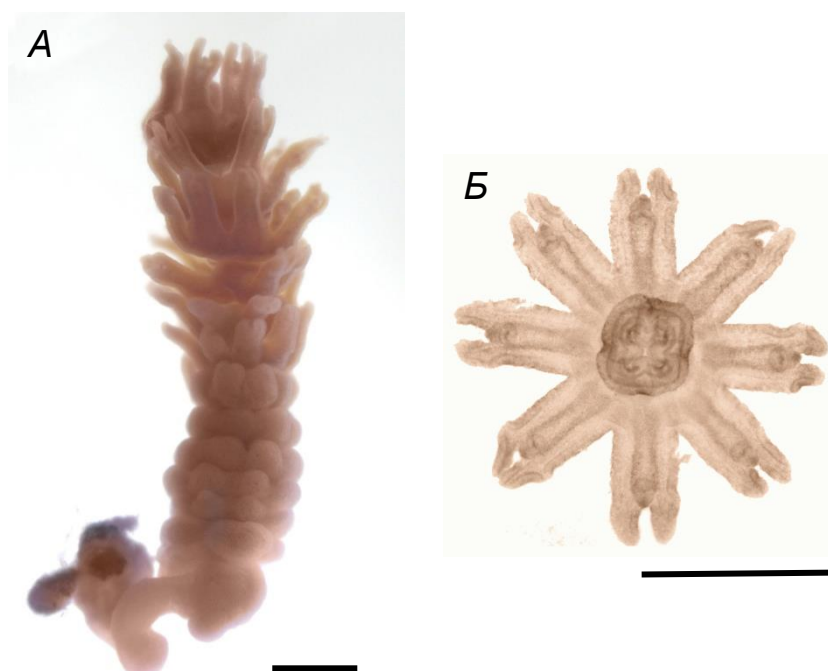


Рисунок 5. Гибридизация *in situ*, Отрицательный контроль. А - поздняя стробила, Б - эфира. Масштабная линейка - 1 мм.

Исследования проведены с использованием оборудования Научного парка СПбГУ «Культивирование микроорганизмов», «Развитие Молекулярных и Клеточных Технологий» и «Хромас».

Результаты.

В ходе анализа транскриптомной базы NCBI была выявлена лишь одна последовательность Нох-гена *Aurelia aurita*, гомологичная Нох-генам других Metazoa – *Hox1*. Помимо поиска в открытых базах данных, несколько Нох-подобных генов были найдены в более подробных неопубликованных транскриптомных последовательностях, доступ к которым был предоставлен К.В.Халтуриным (Marine Genomics Unit, OIST, Japan). Таким образом, в транскриптомных последовательностях *Aurelia aurita* линии Roscoff было обнаружено 13 Нох-подобных последовательностей: *Hox1*, *Hox25*, *Hox32*, *Hox38*, *Hox62*, *Hox81*, *Hox85*, *Hox93*, *Hox95*, *Hox96*, *Hox101*, *Hox105*, *Hox110*. Названия генов являются производными номеров транскриптомных последовательностей, которые содержат в себе Нох-гены. *Hox81* и *Hox85* – короткая и длинная последовательность пептида одного гена. Результаты анализа доменной архитектуры подтвердили наличие гомеодомена в каждой из найденных последовательностей (см. Приложение 2).

С помощью анализа транслированных аминокислотных последовательностей с использованием алгоритма blastp мы показали схожесть найденных генов с имеющимися в базе данных Нох-генами других кишечнополостных. Последовательности генов *Hox32*, *Hox62*, *Hox81*, *Hox85*, *Hox95*, *Hox96*, *Hox105* практически идентичны с ранее описанными пятью Нох-подобными генами *Cassiopea xamachana* (Cnidaria: Scyphozoa) (Kuhn et. al., 1999): *Hox62* схож с геном *Scox-2*; ортологом генов *Hox32*, *Hox81* и *Hox85* является *Scox-3*; *Hox95* – *Scox-5*; *Hox96* схож с *Scox-4*; *Hox105* гомологичен гену *Scox-1*. Оставшиеся предсказанные аминокислотные последовательности генов схожи с Нох-подобными последовательностями представителей класса Hydrozoa. Ортологом *Hox25* является ген *Pdx/Xlox Turritopsis dohrnii* (Quiquand et al., 2009) *Hox38* и *Hox93* гомологичны *Hox1 Podocoryna carnea* (Aerne et al., 1995), *Hox101* - *Cnox-1 Eleutheria dichotoma* (Kamm et al., 2006). Для двух белковых продуктов генов (*Hox110* и *Hox1*) не были найдены гомологи среди имеющихся в базе последовательностей кишечнополостных. *Hox110* имеет наибольшее сходство с homeobox 1 *Leptosomus discolor* (Chordata: Aves) (неопубликованные данные), а *Hox1* более всего гомологичен гену *Hox-D3 Fundulus heteroclitus* (Chordata: Actinopterygii) (неопубликованные данные) (табл. 1). Поиск по нуклеотидным последовательностям в базе данных GenBank NCBI позволил установить идентичность гена *Hox1* с геном *A. aurita Scox-8* (AB036692), опубликованном только в базе данных.

Транскриптомные Нох-подобные последовательности	Наилучшие совпадения последовательностей из NCBI	E-value
Hox1	Hox-D3 [<i>Fundulus heteroclitus</i>]	9e-19
Hox25	Pdx/Xlox [<i>Turritopsis dohrnii</i>]	7e-43
Hox32	Scox-3 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	8e-71
Hox38	Hox1 [<i>Podocoryna carnea</i>]	5e-60
Hox62	Scox-2 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	7e-109
Hox81	Scox-3 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	4e-61
Hox85	Scox-3 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	1e-70
Hox93	Cnox-2 [<i>Podocoryna carnea</i>]	1e-31
Hox95	Scox-5 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	2e-26
Hox96	Scox-4 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	3e-28
Hox101	Cnox-1 [<i>Eleutheria dichotoma</i>]	1e-35
Hox105	Scox-1 [<i>Cassiopea xamachana</i>]	1e-86
Hox110	homeobox 1 [<i>Leptosomus discolor</i>]	2e-14

Таблица 1. Таблица сходства обнаруженных последовательностей Нох-генов с другими гомеобокс-содержащими генами базы NCBI.

Нами был проведён филогенетический анализ транслированных аминокислотных последовательностей найденных генов. С помощью анализа мы показали, что в транскриптоме *A. aurita* линии Roscoff имеются как Нох, так и ParaНох-гены, которые хорошо кластеризуются с Нох/ParaНох-генами других кишечнополостных (рис. 6). В нашей работе мы придерживаемся классификации Нох/ParaНох-генов Cnidaria, предложенной Chiori R. и соавторами в 2009 году. Таким образом, группы Нох- и ParaНох-генов содержат по крайней мере по одной последовательности Нох-подобных генов из *Aurelia aurita* линии Roscoff, за исключением групп HOX2, HOX9-14A и CDX:

1. К группе генов HOX1 относится ген *Hox38 Aurelia aurita*. Также данная группа содержит Нох-гены представителей Hydrozoa и Anthozoa, однако Нох-гены других представителей Scyphozoa отсутствуют.
2. Гены *Hox32*, *Hox85* кластеризуются с геном *Scox-3 Cassiopea xamachana* в группу HOX9-14B. В группе HOX9-14C имеются гены *Hox95*, *Hox96*, *Hox101* и *Hox105 Aurelia aurita*, а также *Scox-1*, *Scox-4* и *Scox-5 Cassiopea xamachana*.
3. К ParaНох-генам группы CDX относятся гены *Hox25*, *Hox62* и *Hox110*. В этой же группе оказывается ген *Scox-2 Cassiopea xamachana*.
4. Ген *Hox93* кластеризуется с геном *Cnox-2 Podocoryne carnea*. Данная ветка не относится ни к одному выделенному классу Нох и ParaНох-генов.
5. Также вне классов Нох и ParaНох-генов оказывается ген *Hox1*.

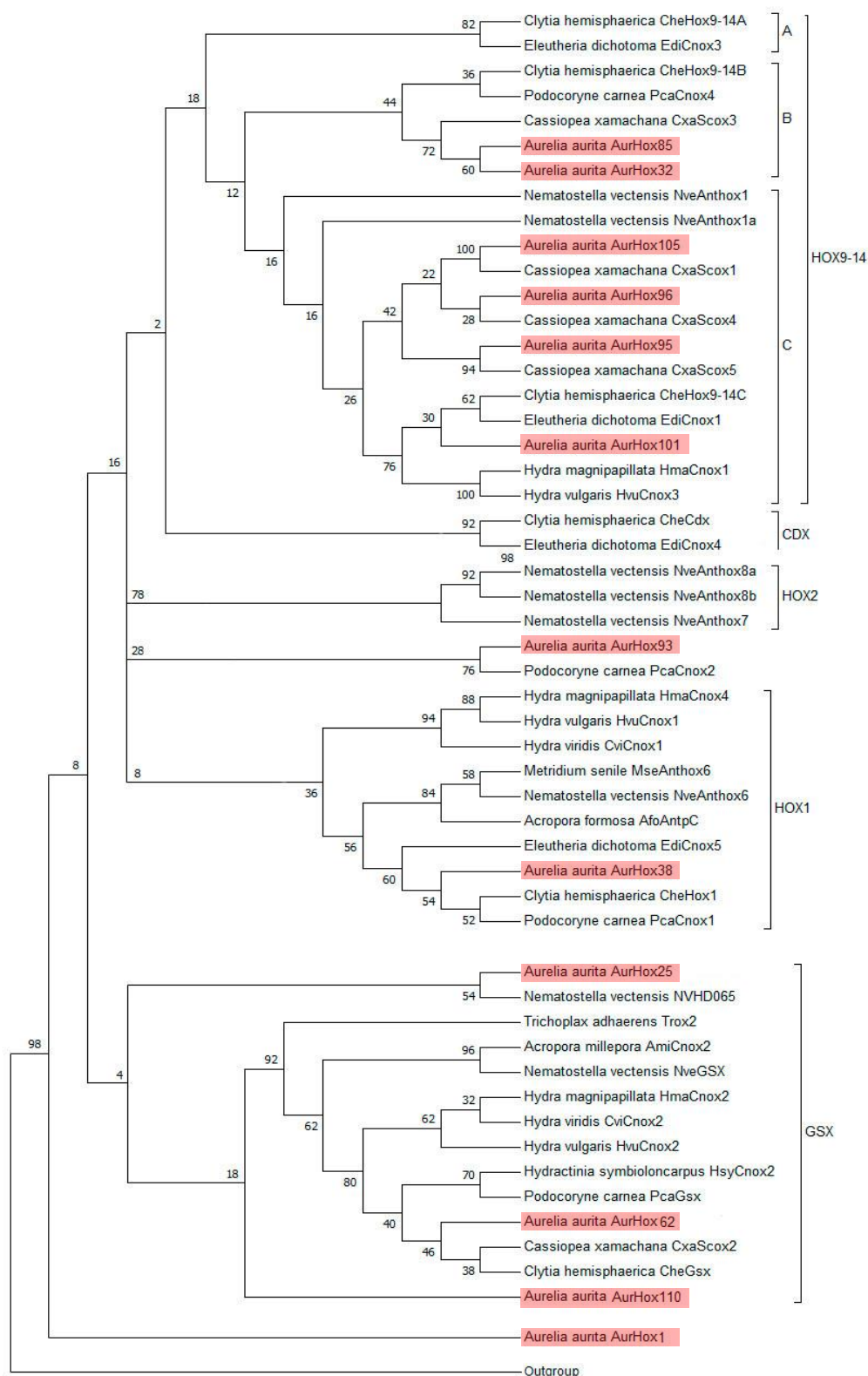


Рисунок 6. Филогенетические отношения Hox/ParaHox генов Cnidaria и Placozoa, полученные с помощью ML анализа. Цифры указывают значение bootstrap. Сокращения: Aur - *Aurelia aurita*; Ami - *Acropora millepora*; Che - *Clytia hemisphaerica*; Cxa - *Cassiopeia xamachana*; Edi - *Eleutheria dichotoma*; Hma - *Hydra magnipapillata*; Hsy - *Hydractinia symbiolongicarpus*; Hvu - *Hydra vulgaris*; Mse - *Metridium senile*; Nve - *Nematostella vectensis*; Pca - *Podocoryne carnea*; Tr - *Trichoplax adhaerens*.

К каждой из проанализированных последовательностей были подобраны и синтезированы праймеры (см. Приложение 1). Для верификации обнаруженных генов нами была проведена ПЦР с использованием подобранных праймеров и микс-матрицы (комбинация выделенной ДНК *A. aurita* со стадий полипа, стробилы и эфиры). Результаты верификации генов в лабораторной культуре *Aurelia aurita* представлены на (рис. 7). Для праймеров к генам *Hox1* и *Hox96* был проведен подбор оптимальной температуры отжига с помощью градиентной ПЦР (рис. 8). С помощью ПЦР нам не удалось обнаружить гены *Hox25*, *Hox81*, *Hox85*, и *Hox110* в *Aurelia aurita* линии Roscoff. Из найденных генов шесть (*Hox1*, *Hox32*, *Hox38*, *Hox62*, *Hox93*, *Hox96*) были отобраны для дальнейшего анализа. Проведено молекулярное клонирование этих генов, последовательности секвенированы. На основе этих последовательностей синтезировали зонды для РНК-гибридизации *in situ* (рис. 9).

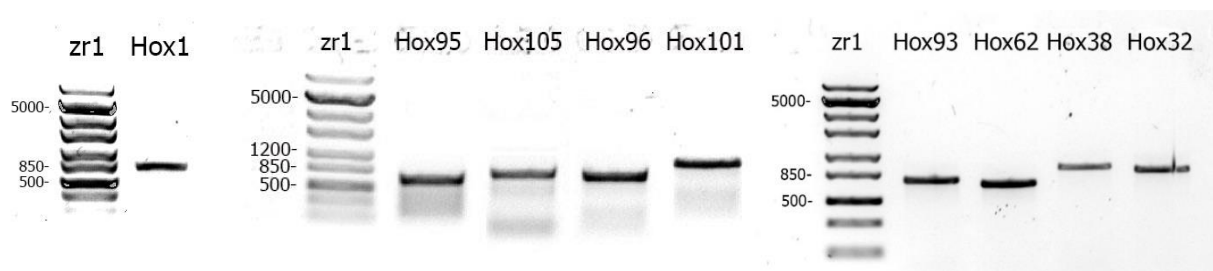


Рисунок 7. Электрофорограмма продуктов ПЦР-амплификации генов *Hox1*, *Hox95*, *Hox105*, *Hox96*, *Hox101*, *Hox93*, *Hox62*, *Hox38*, *Hox32* с микс-матрицей (комбинация кДНК со стадий полипа, стробилы и эфиры): zr1 – маркер ZipRuler 1

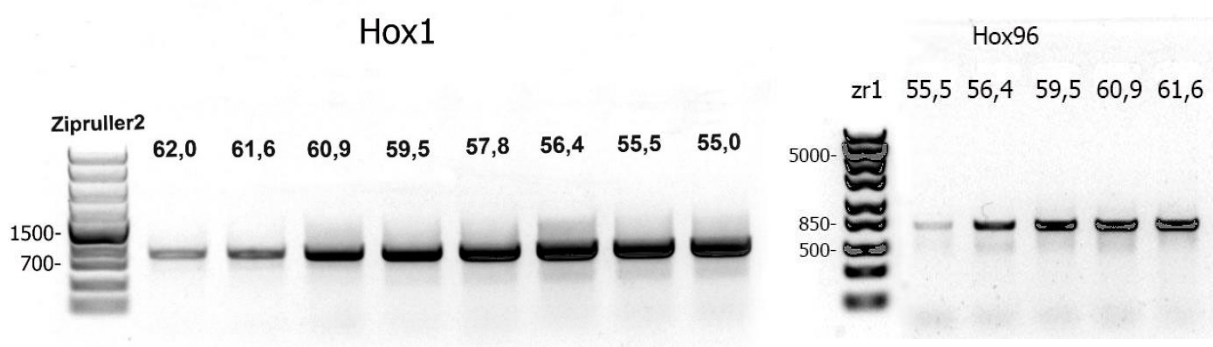


Рисунок 8. Электрофорограмма продуктов градиентной ПЦР-амплификации генов *Hox1*, *Hox96* с микс-матрицей (комбинация кДНК со стадий полипа, стробилы и эфиры): Zipruller1,2 - маркеры, 62,0-55,0 и 55,5-61,6 – градиент температур в градусах Цельсия.

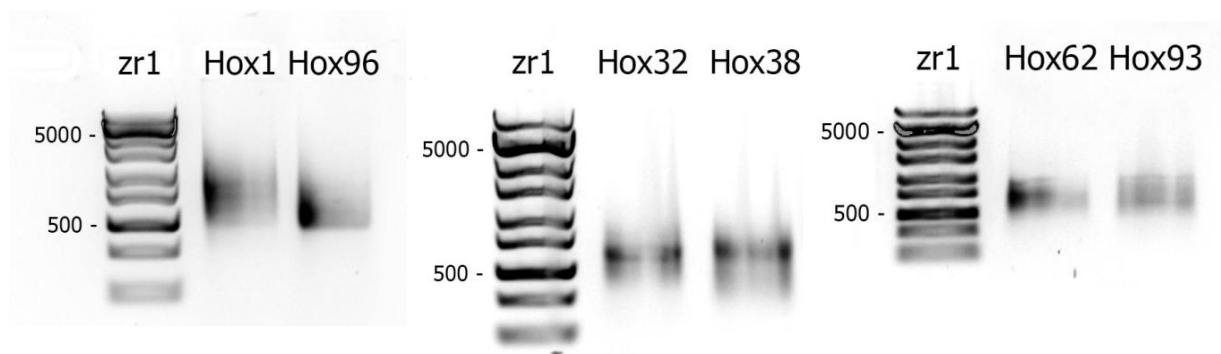


Рисунок 9. Электрофорограмма зондов для РНК-гибридизации *in situ*, синтезированные к последовательностям генов *Hox1*, *Hox96*, *Hox32*, *Hox38*, *Hox62*, *Hox93*: *zr1* – маркер ZipRuler 1

РНК-гибридизации *in situ* была проведена только для двух генов - *Hox93* и *Hox62*. Экспрессия гена *Hox93* не наблюдается на стадиях полипа, почкующегося полипа и на стадии ранней стробилы. На стадии поздней стробилы в молодых формирующихся эфирах сигнал также отсутствует и появляется только на более зрелых, ещё не отделившихся эфирах в верхней части стробилы (рис. 10). На стадии отделившейся эфире сигнал проявляется в эктодермальных клетках по краю лопастей и ротовой трубки.

С помощью РНК-гибридизации *in situ* удалось обнаружить клетки, экспрессирующие выявленный в транскриптом *Hox62* (рис. 11). На стадиях одиночного полипа, полипа с почкой и ранней стробилы экспрессия гена не обнаружена. У поздней стробилы окрашивание наблюдается по краям лопастей зрелых эфир. У эфир экспрессия гена проявляется на концах лопастей, в участках между лопастями, а также в формирующихся ропалиях.

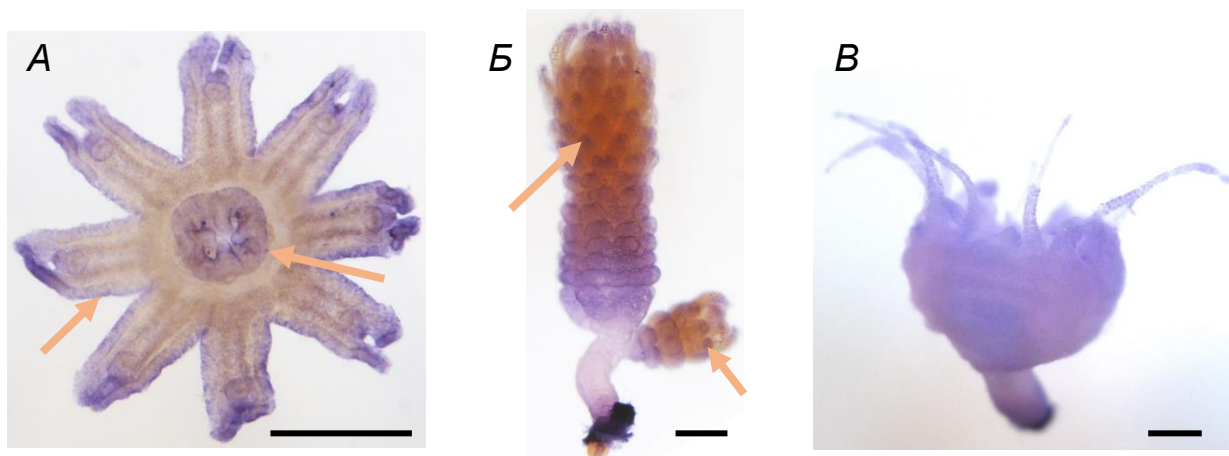


Рисунок 10. Гибридизация *in situ*, *Hox93*. А - эфифра, Б - поздняя стробила. Стрелками обозначены некоторые участки экспрессии гена. Масштабная линейка – 1 мм.

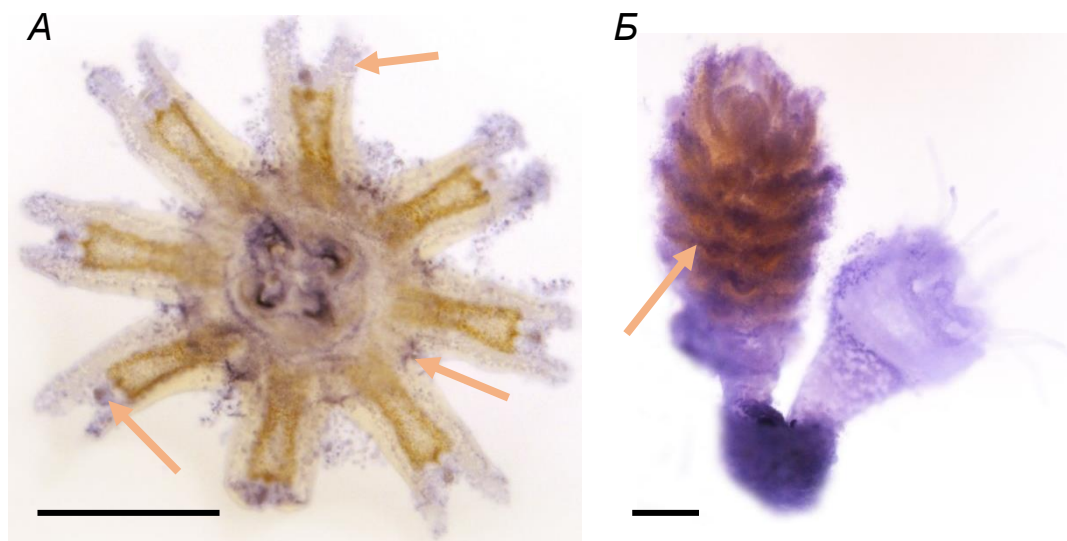


Рисунок 11. Гибридизация *in situ*, *Hox62*. А - эфифра, Б - поздняя стробила. Стрелками обозначены некоторые участки экспрессии гена. Масштабная линейка – 1 мм.

Обсуждение результатов.

В результате проведенного поиска нами было обнаружено двенадцать гомеобокс-содержащих генов, предположительно относящихся к семействам Нох и ParaНох. Репертуар Нох/ParaНох-генов у *A. aurita* представлен одиннадцатью генами, один ген с большой долей вероятности относится к сестринским группам генов Eve или Мох. Нами показана гомология найденных генов и последовательностей других многоклеточных организмов (табл. 1). Среди найденных нами последовательностей присутствуют гены, характерные для представителей Hydrozoa и Scyphozoa, однако отсутствуют гомологи генов Anthozoa. По всей видимости, эволюция Нох-генов в этих группах шла независимо. Это можно объяснить ранним ответвлением Anthozoa от других клад кишечнополостных, объединяемых в таксон Medusozoa (Collins, 2009; Kayal et al., 2013; Pratlong et al., 2017).

На данный момент не существует общепринятой классификации Нох/ParaНох-генов Cnidaria. В нашей работе мы придерживаемся классификации, предложенной Chiori et al. (2009). Согласно мнению авторов работы, Нох/ParaНох-гены Cnidaria делятся на группы генов Нох (HOX1, HOX2 и HOX9-14 подгруппы А, В и С) и ParaНох (CDX и GSX).

Результаты проведенного нами филогенетического анализа Нох-генов *A. aurita* (рис. 6) согласуется с предыдущими исследованиями, продемонстрировавшими наличие истинных Нох-генов у кишечнополостных (Monteiro et al., 2006; Schierwater et al., 2008). В каждой отдельной линии Cnidaria происходили специфичные появления или потери генов. Часто филогенетический анализ Нох-генов Hydrozoa и Scyphozoa отображает эти гены в качестве близких родственников (Chiori et. al., 2009). Это может говорить в пользу их сестринских отношений на эволюционном дереве. На нашем дереве хорошо иллюстрируется большое сходство последовательностей Hydrozoa и Scyphozoa (рис. 6). Также наблюдается увеличение количества Нох- и ParaНох-генов в группах GSX и HOX9-14 В и С по сравнению с Anthozoa. Напротив, в некоторых линиях Cnidaria отсутствуют некоторые группы генов. Группа HOX2 содержит только последовательности генов Bilateria и *Nematostella vectensis* (Cnidaria: Anthozoa), что соответствует ранее опубликованным данным (Chiori et. al., 2009). Это может являться следствием того, что гены группы HOX2 были потеряны в процессе эволюции у филы Medusozoa. Аналогично, *Nematostella vectensis*, вероятно, потеряла гены группы HOX9-14А. Данная группа содержит только последовательности представителей класса Hydrozoa.

Найденные в транскриптомных последовательностях *Aurelia aurita* Нох- и ParaНох-гены хорошо отражают разнообразие гомеобокс-содержащих генов, встречающихся у Cnidaria. Все Нох- и ParaНох-группы содержат, по крайней мере, по одной

последовательности Нох-подобных генов из *Aurelia aurita* линии Roscoff, за исключением групп НОХ2 и НОХ9-14А. К группе генов НОХ1 относится ген *Hox38 Aurelia aurita*. Также данная группа содержит Нох-гены представителей Hydrozoa и Anthozoa, однако Нох-гены других представителей Scyphozoa отсутствуют, что можно объяснить слабой изученностью данной группы. Ни одна из найденных нами последовательностей не кластеризовалась в группу НОХ2, что подтверждает литературные данные о наличии генов данной группы только у представителей класса Anthozoa (Chiori et. al., 2009).

Филогенетический анализ показал, что шесть последовательностей (*Hox32*, *Hox85*, *Hox95*, *Hox96*, *Hox101*, *Hox105*) кластеризуются с генами группы НОХ9-14, что подчеркивает большое разнообразие генов в этой группе. Группа НОХ9-14 организована в четыре подгруппы: в состав первой подгруппы входят Нох-гены билатерально симметричных животных, три другие подгруппы (подгруппа А, подгруппа В и подгруппа С) содержат последовательности Нох-генов, характерные для Cnidaria (Chiori et. al., 2009). Ранее было показано (или было сделано предположение), что подгруппа А содержит последовательности генов только представителей класса Hydrozoa. Результаты проведенного нами анализ хорошо согласуются с данным предположением (выводами, ну или как сочтешь нужным). Гены *Hox32*, *Hox85* кластеризуются вместе с геном *Scox-3 Cassiopea xamachana* в подгруппу В. В подгруппе С имеются гены *Hox95*, *Hox96*, *Hox101* и *Hox105 Aurelia aurita*, а также *Scox-1*, *Scox-4* и *Scox-5 Cassiopea xamachana*. На дереве, приведённом в нашей работе, видно, что гены *Cassiopea xamachana* схожи с генами *Aurelia aurita*. Это может говорить о слабой изученности Нох-генов *Cassiopea xamachana*. Поиск Нох-генов *Cassiopea xamachana* проводился посредством амплификации кДНК с помощью вырожденных праймеров (Kuhn et al., 1999). Альтернативным вариантом является потеря некоторых генов *Cassiopea xamachana* или приобретение дополнительных генов у *Aurelia aurita*.

К ParaНох-генам группы GSX относятся гены *Hox62 Aurelia aurita* и *Scox-2 Cassiopea xamachana*. В группу класетризуется ген *Hox25*. В данной группе отсутствуют ParaНох-гены *Cassiopea xamachana*. Таким образом, Нох-гены *Cassiopea xamachana* в группе CDX либо ещё не обнаружены, либо отсутствуют.

Ген *Hox93* кластеризуется с геном *Cnox-2 Podocoryne carnea*. Данные гены не удалось отнести ни к одному из выделенных классов Нох и ParaНох-генов. Полученные данные хорошо согласуются с литературными о том, что ген *Cnox-2 Podocoryne carnea* образует самостоятельную группу (Chiori et. al., 2009).

Вне классов Нох и ParaНох-генов также оказываются гены *Hox1* и *Hox110*, которые, по результатам анализа этих последовательностей, не имели гомологов среди Нох/ParaНох-генов других представителей Cnidaria. Данные гены могут относиться к близким для Нох и ParaНох группам Мох и Eve. Для подтверждения данного предположения требуется проведение дополнительного анализа.

Ни одна из найденных нами последовательностей не кластеризовалась с группой НОХ2, что подтверждает данные их литературных источников о наличии генов данной группы только у представителей класса Anthozoa (Chiori et. al., 2009).

Получение результатов филогенетического анализа с низкой статистической достоверностью – часто встречающаяся проблема при построении дерева с использованием коротких последовательностей (Ryan et al., 2007; Sekigami et al., 2017). Это явление характерно и для гомеодоменных последовательностей, содержащих всего 60 аминокислот. Кроме того, было показано, что значения bootstrap слабо отражают надежность анализа наборов данных, содержащих менее 100 символов (Alfaro et al., 2003). Малое количество статистически поддерживаемых ветвей в полученном нами дереве и значения bootstrap ниже 50 в большинстве главных узлов является характерным для филогенетических деревьев, построенных на основе последовательностей гомеодомена (Finnerty et al., 1997; Gauchat et al., 2000; Ryan et al., 2007; Chiori et. al., 2009).

Нами была проведена РНК-гибридизация *in situ* с геном *Hox93*, не кластеризующимся ни в одну описанную группу Нох-генов, и *Hox62*, который является представителем группы *GSX*. Экспрессия гена *Hox93* появляется лишь на поздних стадиях стробилиации и хорошо выражена у эфиры. Подобный характер экспрессии может указывать на роль данного гена в образовании лопастей и ротовой трубки развивающихся эфир. Полученные нами результаты полностью соответствуют данным по экспрессии *Cnox-2 Podocoryna carnea* (Masuda-Nakagawa et al., 2000), ортолога гена *Hox93*. Экспрессия гена *Hox93* обнаруживается только на стадиях поздней стробилы и эфиры, но не наблюдается у полипа, ранней стробилы и у почкующегося полипа. Это может быть связано с тем, что у Scyphozoa данный ген изменил характер своей экспрессии. Ген *Hox62* является ортологом гена *Scox-2 Cassiopea xamachana*, данные по экспрессии которого отсутствуют, однако полученная нами картина экспрессии соответствует таковой у гена *GSX Clytia gregaria*. Экспрессия *GSX* у *C. gregaria* наблюдается только на стадии медузы, что соответствует полученным нами результатам.

Обнаруженный нами характер экспрессии генов *Hox62* и *Hox93* не согласуется с функцией регулирования дифференцировки клеток вдоль осей тела. Исходя из полученных данных, можно предположить, что эти гены обеспечивают правильное

развитие лопастей и ротовой трубки эфир. Вероятно, наличие сильно различающихся стадий в жизненном цикле многих книдарий связано с изменениями в регуляции Нох-генов. Возможно, гомеобокс-содержащие гены, были ответственны за появление стадии свободноплавающей медузы (принимая во внимание теорию первичности стадии полипа) (Aerne et al., 1995; Chiori et. al., 2009).

Таким образом, наши результаты позволяют сделать предположение о том, гены семейства Нох в комплексе с ParaНох-генами принимают участие в регуляции процесса стробиляции и формирования эфир *Aurelia aurita*. Это соответствует данным, полученным по другим кишечнополостным, в жизненном цикле которых присутствует стадия медузы (Masuda-Nakagawa et al., 2000; Kamm et al., 2006; Jakob and Schierwater, 2007; Chiori et. al., 2009; Sanders and Cartwright, 2015).

Выводы.

1. В транскриптоме *Aurelia aurita* линии Roscoff имеется 12 Нох-подобных генов.
2. У *Aurelia aurita* присутствуют как Нох-гены, так и сестринские им ParaНох-гены.
3. Нох-подобные гены *Aurelia aurita* присутствуют во всех Нох-классах, характерных для Cnidaria, за исключением группы HOX2 и HOX9-14A.
4. Экспрессия генов *Hox62* и *Hox93* не согласуется с функцией регулирования дифференцировки клеток вдоль осей тела. Возможно эти гены участвуют в формировании лопастей и ротовой трубки эфир.

Благодарности.

Автор выражает благодарность сотрудникам ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Культивирование микроорганизмов», «Развитие Молекулярных и Клеточных Технологий» и «Хромас» за помощь в работе, Константину Халтурину за предоставление доступа в геномной информации и помощь с поиском генов, Хабибулиной Валерии Руслановной за консультацию и помощь в работе, Кремневу Георгию Артуровичу за консультацию в построении филогенетических деревьев, Старунову Виктору Вячеславовичу за чуткое и внимательное руководство, помощь в освоении методов и практические советы, ценные замечания и правки в ходе работы над текстом.

Список литературы.

1. Aboobaker A.A., Blaxter M.L. Hox gene loss during dynamic evolution of the nematode cluster // *Current Biology*. - 2003. - V. 13. - P. 37-40
2. Acampora D. et al. The human HOX gene family // *Nucleic acids research*. – 1989. – T. 17. – №. 24. – C. 10385-10402.
3. Aerne B. L., Baader C. D., Schmid V. Life stage and tissue-specific expression of the homeobox gene *cnox1-Pc* of the hydrozoan *Podocoryne carnea* // *Developmental biology*. – 1995. – T. 169. – №. 2. – C. 547-556.
4. Akam M. Hox and HOM: homologous gene clusters in insects and vertebrates // *Cell*. – 1989. – T. 57. – №. 3. – C. 347-349.
5. Akam M. Hox genes, homeosis and the evolution of segment identity: no need for hopeless monsters // *Integrative Journal of Developmental Biology*. – 1998. – V 42. – P. 445-451.
6. Akam M. The molecular basis for metameric pattern in the *Drosophila* embryo // *Development*. – 1987. – T. 101. – №. 1. – C. 1-22.
7. Alfaro M. E., Zoller S., Lutzoni F. Bayes or bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence // *Molecular Biology and Evolution*. – 2003. – T. 20. – №. 2. – C. 255-266.
8. Andreeva T. F. et al. Cloning and analysis of structural organization of Hox genes in the Polychaete *Nereis virens* // *Russian Journal of Developmental Biology*. – 2001. – T. 32. – №. 3. – C. 183-191.
9. Andrew D. J., Scott M. P. Downstream of the homeotic genes // *New Biol*. – 1992. – T. 4. – №. 1. – C. 5-15.
10. Arenas-Mena C., Martinez P., Cameron A.R., Davidson E.H. Expression of the Hox gene complex in the indirect development of sea urchin // *Proceedings of the National Academy of Science*. – 1998. – V 95. – P. 13062-13067.
11. Arnone M. I. et al. Genetic organization and embryonic expression of the ParaHox genes in the sea urchin *S. purpuratus*: insights into the relationship between clustering and colinearity // *Developmental biology*. – 2006. – T. 300. – №. 1. – C. 63-73.
12. Averof M., Akam M. Hox genes and the diversification of insect and crustacean body plans // *Nature*. – 1995. – T. 376. – №. 6539. – C. 420.
13. Averof M., Patel N. H. Crustacean appendage evolution associated with changes in Hox gene expression // *Nature*. – 1997. – T. 388. – №. 6643. – C. 682.
14. Awgulewitsch A. Hox in hair growth and development // *Naturwissenschaften*. - 2003. - V. 90. - P. 193–211.

15. Balavoine G., de Rosa R., Adoutte A. Hox clusters and bilaterian phylogeny //Molecular phylogenetics and evolution. – 2002. – T. 24. – №. 3. – C. 366-373.
16. Baldwin C. T. et al. Mutations in PAX3 associated with Waardenburg syndrome type I //Human mutation. – 1994. – T. 3. – №. 3. – C. 205-211.
17. Bartels J. L., Murtha M. T., Ruddle F. H. Multiple Hox/HOM-class homeoboxes in Platyhelminthes //Molecular phylogenetics and evolution. – 1993. – T. 2. – №. 2. – C. 143-151.
18. Beeman R. W. A homoeotic gene cluster in the red flour beetle //Nature. – 1987. – T. 327. – №. 6119. – C. 247.
19. Benjamin P. A. Genetics: a conceptual approach. – 2005.
20. Bridge D. et al. Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence //Molecular Biology and Evolution. – 1995. – T. 12. – №. 4. – C. 679-689.
21. Brock H. W., Fisher C. L. Maintenance of gene expression patterns //Developmental dynamics. – 2005. – T. 232. – №. 3. – C. 633-655.
22. Brooke N. M., Garcia-Fernandez J., Holland P. W. H. The ParaHox gene cluster is an evolutionary sister of the Hox gene cluster //Nature. – 1998. – T. 392. – №. 6679. – C. 920.
23. Brun A.C., Björnsson J.M., Magnusson M., Larsson N., Leveén P., Ehinger M., Nilsson E., Karlsson S. Hoxb4-deficient mice undergo normal hematopoietic development but exhibit a mild proliferation defect in hematopoietic stem cells // Blood. - 2004. - V. 103. - P. 4126-33.
24. Bürglin T. R. et al. Caenorhabditis elegans has scores of homoeobox-containing genes //Nature. – 1989. – T. 341. – №. 6239. – C. 239.
25. Burglin T. R. et al. Nematode homeobox cluster //Nature. – 1991. – T. 351. – C. 703-703.
26. Bürglin T. R. Homeodomain subtypes and functional diversity //A handbook of transcription factors. – Springer, Dordrecht, 2011. – C. 95-122.
27. Bürglin T. R. The PBC domain contains a MEINOX domain: coevolution of Hox and TALE homeobox genes? //Development genes and evolution. – 1998. – T. 208. – №. 2. – C. 113-116.
28. Burke A. C. et al. Hox genes and the evolution of vertebrate axial morphology //Development. – 1995. – T. 121. – №. 2. – C. 333-346.
29. Carroll S. B., Grenier J. K., Weatherbee S. D. From DNA to diversity: molecular genetics and the evolution of animal design. – John Wiley & Sons, 2013.
30. Cartwright P., Bowsher J., Buss L. W. Expression of a Hox gene, Cnox-2, and the division of labor in a colonial hydroid //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – T. 96. – №. 5. – C. 2183-2186.

31. Castelli-Gair J. The *linex* gene of *Drosophila* is required for specific functions of the Abdominal-B HOX protein //Development. – 1998. – T. 125. – №. 7. – C. 1269-1274.
32. Castro L. F. C., Holland P. W. H. Chromosomal mapping of ANTP class homeobox genes in amphioxus: piecing together ancestral genomes //Evolution & development. – 2003. – T. 5. – №. 5. – C. 459-465.
33. Chapman J. A. et al. The dynamic genome of *Hydra* //Nature. – 2010. – T. 464. – №. 7288. – C. 592.
34. Chiori R. et al. Are Hox genes ancestrally involved in axial patterning? Evidence from the hydrozoan *Clytia hemisphaerica* (Cnidaria) //PloS one. – 2009. – T. 4. – №. 1. – C. e4231.
35. Chourrout D. et al. Minimal ProtoHox cluster inferred from bilaterian and cnidarian Hox complements //Nature. – 2006. – T. 442. – №. 7103. – C. 684.
36. Clark S. G., Chisholm A. D., Horvitz H. R. Control of cell fates in the central body region of *C. elegans* by the homeobox gene *lin-39* //Cell. – 1993. – T. 74. – №. 1. – C. 43-55.
37. Collins A. G. Evaluating multiple alternative hypotheses for the origin of Bilateria: an analysis of 18S rRNA molecular evidence //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95. – №. 26. – C. 15458-15463.
38. Collins A. G. Recent insights into cnidarian phylogeny //Smithsonian contributions to the marine sciences. – 2009. – №. 38.
39. Compagen [Электронный ресурс], URL: compagen.org/aurelia (дата обращения: 29.04.2018)
40. Cook C. E. et al. Hox genes and the phylogeny of the arthropods //Current Biology. – 2001. – T. 11. – №. 10. – C. 759-763.
41. Crowe N. et al. The diversification of developmental biology //Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences. – 2015. – T. 53. – C. 1-15.
42. Davidson E. H. Emerging properties of animal gene regulatory networks //Nature. – 2010. – T. 468. – №. 7326. – C. 911.
43. De Rosa R. , Grenier J. K. , Andreeva T. , Cook C. , Adoulle A .. Akam M. . Carroll S. , Balavoine C. Hox-genes in brachiopods and priapulids and protostome evolution// Nature. 1999. Vol . 399, N 6738. P . 772-776.
44. Derelle R. et al. Homeodomain proteins belong to the ancestral molecular toolkit of eukaryotes //Evolution & development. – 2007. – T. 9. – №. 3. – C. 212-219.
45. Dolecki G. J. et al. Stage-specific expression of a homeo box-containing gene in the non-segmented sea urchin embryo //The EMBO journal. – 1986. – T. 5. – №. 5. – C. 925-930.

46. Duboule D. The rise and fall of Hox gene clusters //Development. – 2007. – Т. 134. – №. 14. – С. 2549-2560.
47. Duboule D., Dollé P. The structural and functional organization of the murine HOX gene family resembles that of Drosophila homeotic genes //The EMBO journal. – 1989. – Т. 8. – №. 5. – С. 1497-1505.
48. Duncan I., Lewis E. B. Genetic control of body segment differentiation in Drosophila //Genes, Development, and Cancer. – Springer, Dordrecht, 2007. – С. 243-261.
49. EMBOSS Transeq [Электронный ресурс], URL: ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/ (дата обращения: 29.04.2018).
50. Enriquez J. et al. Multi-step control of muscle diversity by Hox proteins in the Drosophila embryo //Development. – 2010. – Т. 137. – №. 3. – С. 457-466.
51. Ezzell G. A. Genetic and geometric optimization of three-dimensional radiation therapy treatment planning //Medical Physics. – 1996. – Т. 23. – №. 3. – С. 293-305.
52. Fantini B. Molecularizing embryology: Alberto Monroy and the origins of Developmental Biology in Italy //International Journal of Developmental Biology. – 2004. – Т. 44. – №. 6. – С. 537-553.
53. Fantini B. The "Stazione Zoologica Anton Dohrn" and the history of embryology //International Journal of Developmental Biology. – 2004. – Т. 44. – №. 6. – С. 523-535.
54. Ferrier D. E. K., Akam M. Organization of the Hox gene cluster in the grasshopper, *Schistocerca gregaria* //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1996. – Т. 93. – №. 23. – С. 13024-13029.
55. Ferrier D. E. K., Holland P. W. H. Ancient origin of the Hox gene cluster //Nature Reviews Genetics. – 2001. – Т. 2. – №. 1. – С. 33.
56. Ferrier D. E. K., Holland P. W. H. Ciona intestinalis ParaHox genes: evolution of Hox/ParaHox cluster integrity, developmental mode, and temporal colinearity //Molecular phylogenetics and evolution. – 2002. – Т. 24. – №. 3. – С. 412-417.
57. Ferrier D. E. K., Minguillon C. Evolution of Hox//ParaHox gene clusters // Int. J. Dev. Biol. - 2003. - V. 47. - P. 605-611
58. Ferrier D.E., Minguillon C. , Holland P. W .. Garsia-Fernandes J. The amphioxus Hox-cluster: deuterostome posterior flexibility and Hox14 11 Evol. Dev. 2000. Vol. 2(5). P . 284-293 .
59. Finnerty J. R. Cnidarians reveal intermediate stages in the evolution of Hox clusters and axial complexity //American Zoologist. – 2001. – Т. 41. – №. 3. – С. 608-620.
60. Finnerty J. R. et al. Early evolution of a homeobox gene: the parahox gene Gsx in the Cnidaria and the Bilateria //Evolution & development. – 2003. – Т. 5. – №. 4. – С. 331-345.

61. Finnerty J. R. et al. Origins of bilateral symmetry: Hox and dpp expression in a sea anemone //Science. – 2004. – T. 304. – №. 5675. – C. 1335-1337.
62. Finnerty J. R., Martindale M. Q. Ancient origins of axial patterning genes: Hox genes and ParaHox genes in the Cnidaria //Evolution & development. – 1999. – T. 1. – №. 1. – C. 16-23.
63. Finnerty J. R., Martindale M. Q. Homeoboxes in sea anemones (Cnidaria; Anthozoa): A PCR-based survey of *Nematostella vectensis* and *Metridium senile* //The Biological Bulletin. – 1997. – T. 193. – №. 1. – C. 62-76.
64. Finnerty J. R., Martindale M. Q. Homeoboxes in sea anemones (Cnidaria; Anthozoa): A PCR-based survey of *Nematostella vectensis* and *Metridium senile* //The Biological Bulletin. – 1997. – T. 193. – №. 1. – C. 62-76.
65. Finnerty J. R., Martindale M. Q. The evolution of the Hox cluster: insights from outgroups //Current opinion in genetics & development. – 1998. – T. 8. – №. 6. – C. 681-687.
66. Freund C. L., McInnes R. R. Guidebook to the Homeobox Genes //American Journal of Human Genetics. – 1995. – T. 57. – №. 3. – C. 736.
67. Fröblius A. C., Matus D. Q., Seaver E. C. Genomic organization and expression demonstrate spatial and temporal Hox gene colinearity in the lophotrochozoan *Capitella* sp. I //PLoS One. – 2008. – T. 3. – №. 12. – C. e4004.
68. Fröblius A. C., Seaver E. C. ParaHox gene expression in the polychaete annelid *Capitella* sp. I //Development genes and evolution. – 2006. – T. 216. – №. 2. – C. 81.
69. Fuchs B. et al. Regulation of polyp-to-jellyfish transition in *Aurelia aurita* //Current Biology. – 2014. – T. 24. – №. 3. – C. 263-273.
70. Galliot B., De Vargas C., Miller D. Evolution of homeobox genes: Q 50 Paired-like genes founded the Paired class //Development genes and evolution. – 1999. – T. 209. – №. 3. – C. 186-197.
71. Garcia-Bellido A. Genetic control of wing disc development in *Drosophila* //Cell patterning. – 1975. – T. 29. – C. 161-182.
72. Garcia-Bellido A. Homoeotic and atavistic mutations in insects //American Zoologist. – 1977. – T. 17. – №. 3. – C. 613-629.
73. Garcia-Fernandez J. Hox, ParaHox, ProtoHox: facts and guesses //Heredity. – 2005. – T. 94. – №. 2. – C. 145.
74. Garcia-Fernandez J., Baguna J., Salo E. Planarian homeobox genes: cloning, sequence analysis, and expression //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1991. – T. 88. – №. 16. – C. 7338-7342.

75. Garcia-Fernández J., Holland P. W. H. Archetypal organization of the amphioxus Hox gene cluster //Nature. – 1994. – T. 370. – №. 6490. – C. 563.
76. Gauchat D. et al. Evolution of Antp-class genes and differential expression of Hydra Hox/paraHox genes in anterior patterning //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2000. – T. 97. – №. 9. – C. 4493-4498.
77. Gaunt S. J. The significance of Hox gene collinearity //International Journal of Developmental Biology. – 2015. – T. 59. – №. 4-5-6. – C. 159-170.
78. Gehring W. J. The homeo box: a key to the understanding of development? //Cell. – 1985. – T. 40. – №. 1. – C. 3-5.
79. Gehring W. J., Affolter M., Burglin T. Homeodomain proteins //Annual review of biochemistry. – 1994. – T. 63. – №. 1. – C. 487-526.
80. Gehring W. J., Kloter U., Suga H. Evolution of the Hox gene complex from an evolutionary ground state //Current topics in developmental biology. – 2009. – T. 88. – C. 35-61.
81. Gehring W.J. How do Hox transcription factors find their target genes in the nucleus of living cells? // Biol Aujourdhui. - 2011. - V. 205. - P. 75-85.
82. GenBank NCBI [Электронный ресурс]= The National Center for Biotechnology Information, URL: ncbi.nlm.nih.gov (дата обращения: 29.04.2018).
83. Gilbert F. S. Developmental biology. Sunderland, 2000
84. Gilbert S. F. Developmental Biology Sunderland Sinauer Association Inc. – 2003.
85. Gilbert S. F., Opitz J. M., Raff R. A. Resynthesizing evolutionary and developmental biology //Developmental biology. – 1996. – T. 173. – №. 2. – C. 357-372.
86. Glaser T., Walton D. S., Maas R. L. Genomic structure, evolutionary conservation and aniridia mutations in the human PAX6 gene //Nature genetics. – 1992. – T. 2. – №. 3. – C. 232.
87. Gould S. J. The structure of evolutionary theory. – Harvard University Press, 2002.
88. Hafen E. et al. An improved in situ hybridization method for the detection of cellular RNAs in Drosophila tissue sections and its application for localizing transcripts of the homeotic Antennapedia gene complex //The EMBO journal. – 1983. – T. 2. – №. 4. – C. 617-623.
89. Hayward D. C. et al. Gene structure and larval expression of cnox-2Am from the coral Acropora millepora //Development genes and evolution. – 2001. – T. 211. – №. 1. – C. 10-19.
90. Hikasa H., Sokol S. Y. Wnt signaling in vertebrate axis specification //Cold Spring Harbor perspectives in biology. – 2013. – T. 5. – №. 1. – C. a007955.
91. Hill A., Wagner A., Hill M. Hox and paraHox genes from the anthozoan Parazoanthus parasiticus //Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2003. – T. 28. – №. 3. – C. 529-535.

92. Hoegg S. et al. Phylogenetic timing of the fish-specific genome duplication correlates with the diversification of teleost fish //Journal of molecular evolution. – 2004. – T. 59. – №. 2. – C. 190-203.
93. Holland L. Z. Non-neural ectoderm is really neural: evolution of developmental patterning mechanisms in the non-neural ectoderm of chordates and the problem of sensory cell homologies //Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution. – 2005. – T. 304. – №. 4. – C. 304-323.
94. Holland P. W. H. Beyond the Hox: how widespread is homeobox gene clustering? //The Journal of Anatomy. – 2001. – T. 199. – №. 1-2. – C. 13-23.
95. Holland P. W. H. et al. Gene duplications and the origins of vertebrate development //Development. – 1994. – T. 1994. – №. Supplement. – C. 125-133.
96. Holland P. W. H. Evolution of homeobox genes //Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology. – 2013. – T. 2. – №. 1. – C. 31-45.
97. Holland P. W. H. Major transitions in animal evolution: a developmental genetic perspective //American Zoologist. – 1998. – T. 38. – №. 6. – C. 829-842.
98. Holland P. W. H., Booth H. A. F., Bruford E. A. Classification and nomenclature of all human homeobox genes //BMC biology. – 2007. – T. 5. – №. 1. – C. 47.
99. Holland P. W. H., Garcia-Fernández J. Hoxgenes and chordate evolution //Developmental biology. – 1996. – T. 173. – №. 2. – C. 382-395.
100. Holland P. W., Hogan B. L. Expression of homeo box genes during mouse development: a review //Genes & development. – 1988. – T. 2. – №. 7. – C. 773-782.
101. Hueber S. D. et al. Analysis of central Hox protein types across bilaterian clades: on the diversification of central Hox proteins from an Antennapedia/Hox7-like protein //Developmental biology. – 2013. – T. 383. – №. 2. – C. 175-185.
102. Huelsken J., Birchmeier W. New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates //Current opinion in genetics & development. – 2001. – T. 11. – №. 5. – C. 547-553.
103. Hughes C. L., Kaufman T. C. Hox genes and the evolution of the arthropod body plan //Evolution & development. – 2002. – T. 4. – №. 6. – C. 459-499.
104. Ikuta T. et al. Ciona intestinalis Hox gene cluster: Its dispersed structure and residual colinear expression in development //Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2004. – T. 101. – №. 42. – C. 15118-15123.
105. Izpisua-Belmonte J. C. et al. Murine genes related to the Drosophila AbdB homeotic genes are sequentially expressed during development of the posterior part of the body //The EMBO Journal. – 1991. – T. 10. – №. 8. – C. 2279-2289.

106. Jabs E. W. et al. A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis //Cell. – 1993. – T. 75. – №. 3. – C. 443-450.
107. Jaillon O. et al. Genome duplication in the teleost fish *Tetraodon nigroviridis* reveals the early vertebrate proto-karyotype //Nature. – 2004. – T. 431. – №. 7011. – C. 946.
108. Jakob W., Sagasser S., Dellaporta S., Holland P., Kuhn K., Schierwater B. The *Trox-2* Hox/ParaHox gene of *Trichoplax* (Placozoa) marks an epithelial boundary. // Dev Genes Evol. – 2004. – V 214. – P. 170-175.
109. Jakob W., Schierwater B. Changing hydrozoan bauplans by silencing Hox-like genes //PLoS One. – 2007. – T. 2. – №. 8. – C. e694.
110. Kamm K. et al. Axial patterning and diversification in the cnidaria predate the Hox system //Current Biology. – 2006. – T. 16. – №. 9. – C. 920-926.
111. Kayal E. et al. Cnidarian phylogenetic relationships as revealed by mitogenomics //BMC Evolutionary Biology. – 2013. – T. 13. – №. 1. – C. 5.
112. Kenyon C. A gene involved in the development of the posterior body region of *C. elegans* //Cell. – 1986. – T. 46. – №. 3. – C. 477-487.
113. Kim J., Kim W., Cunningham C. W. A new perspective on lower metazoan relationships from 18S rDNA sequences //Molecular Biology and Evolution. – 1999. – T. 16. – №. 3. – C. 423-427.
114. Kmita M. et al. Serial deletions and duplications suggest a mechanism for the collinearity of *Hoxd* genes in limbs //Nature. – 2002. – T. 420. – №. 6912. – C. 145.
115. Kmita M., Duboule D. Organizing axes in time and space; 25 years of collinear tinkering // Science. – 2003. – V 301. – P. 331-333.
116. Kmita-Cunisse M. et al. Homeobox genes in the ribbonworm *Lineus sanguineus*: evolutionary implications //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95. – №. 6. – C. 3030-3035.
117. Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development //Cell. – 1994. – T. 78. – №. 2. – C. 191-201.
118. Krumlauf R. Mouse Hox genetic functions //Current opinion in genetics & development. – 1993. – T. 3. – №. 4. – C. 621-625.
119. Kuhn K., Streit B., Schierwater B. Homeobox Genes in the Cnidarian *Eleutheria dichotoma*: Evolutionary Implications for the Origin of Antennapedia-Class (HOM/Hox) Genes //Molecular phylogenetics and evolution. – 1996. – T. 6. – №. 1. – C. 30-38.
120. Kuhn K., Streit B., Schierwater B. Isolation of Hox genes from the scyphozoan *Cassiopeia xamachana*: implications for the early evolution of Hox genes //Journal of

- Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. – 1999. – T. 285. – №. 1. – C. 63-75.
121. Kulakova M. A., Cook C. E., Andreeva T. F. ParaHox gene expression in larval and postlarval development of the polychaete *Nereis virens* (Annelida, Lophotrochozoa) //BMC developmental biology. – 2008. – T. 8. – №. 1. – C. 61.
 122. Kwong,G., Burton,P., Mazza,M., Ryan,J., Chaga,O. and Finnerty,J.R. Homeobox Evolution in Basal Animals: Reconstructing the Ancestral Eumetazoan // Department of Biology, Boston University – 2002- Unpublished
 123. Larroux C. et al. The NK homeobox gene cluster predates the origin of Hox genes //Current biology. – 2007. – T. 17. – №. 8. – C. 706-710.
 124. Larroux C., Fahey B., Degnan S.M., Adamski M., Rokhsar D.S. and Degnan B.M. The NK Homeobox Gene Cluster Predates the Origin of Hox Genes. // Current Biology. – 2007. – V 17. – P. 706–710.
 125. Laughon A., Scott M. P. Sequence of a *Drosophila* segmentation gene: protein structure homology with DNA-binding proteins //Nature. – 1984. – T. 310. – №. 5972. – C. 25.
 126. Lawrence P. A., Johnston P., Struhl G. Different requirements for homeotic genes in the soma and germ line of *Drosophila* //Cell. – 1983. – T. 35. – №. 1. – C. 27-34.
 127. Lawrence P. A., Morata G. Homeobox genes: their function in *Drosophila* segmentation and pattern formation //Cell. – 1994. – T. 78. – №. 2. – C. 181-189.
 128. Lemons D., McGinnis W. Genomic evolution of Hox gene clusters //Science. – 2006. – T. 313. – №. 5795. – C. 1918-1922.
 129. Lempradl A., Ringrose L. How does noncoding transcription regulate Hox genes? //Bioessays. – 2008. – T. 30. – №. 2. – C. 110-121.
 130. Lewis E. B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila* //Genes, Development and Cancer. – Springer, Boston, MA, 1978. – C. 205-217.
 131. Lewis E. B. Genetic control and regulation of developmental pathways //The role of chromosomes in development. – 1964. – C. 231-252.
 132. Lewis E. B. The bithorax complex: The first fifty years //Nobel Lectures, Including Presentation Speeches and Laureates' Biographies: 1991-1995. – 1997. – C. 247.
 133. Lutz B. et al. Rescue of *Drosophila* labial null mutant by the chicken ortholog Hoxb-1 demonstrates that the function of Hox genes is phylogenetically conserved //Genes & development. – 1996. – T. 10. – №. 2. – C. 176-184.
 134. Martindale M. Q. The evolution of metazoan axial properties //Nature Reviews Genetics. – 2005. – T. 6. – №. 12. – C. 917.

135. Martinez P. et al. Organization of an echinoderm Hox gene cluster //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – T. 96. – №. 4. – C. 1469-1474.
136. Mastick G. S. et al. Identification of target genes regulated by homeotic proteins in *Drosophila melanogaster* through genetic selection of Ultrabithorax protein-binding sites in yeast //Genetics. – 1995. – T. 139. – №. 1. – C. 349-363.
137. Masuda-Nakagawa L. M. et al. The HOX-like gene Cnox2-Pc is expressed at the anterior region in all life cycle stages of the jellyfish *Podocoryne carnea* //Development genes and evolution. – 2000. – T. 210. – №. 3. – C. 151-156.
138. Mayer A., MalagaTrillo E. Vertebrate genomics: More fishy tales about Hox-genes 11 Curr. Biol. 1999. Vol. 6. P. 210-213.
139. McGinnis W. et al. A conserved DNA sequence in homoeotic genes of the *Drosophila* Antennapedia and bithorax complexes //Nature. – 1984. – T. 308. – №. 5958. – C. 428;
140. McGinnis W. et al. A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans //Cell. – 1984. – T. 37. – №. 2. – C. 403-408.
141. McGinnis W. Homeo box sequences of the Antennapedia class are conserved only in higher animal genomes //Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1985. – T. 50. – C. 263-270.
142. McGinnis W., Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning //Cell. – 1992. – T. 68. – №. 2. – C. 283-302.
143. Miles A., Miller D. J. Genomes of diploblastic organisms contain homeoboxes: sequence of eveC, an even-skipped homologue from the cnidarian *Acropora formosa* //Proc. R. Soc. Lond. B. – 1992. – T. 248. – №. 1322. – C. 159-161.
144. Miljkovic-Licina M. et al. Head regeneration in wild-type hydra requires de novo neurogenesis //Development. – 2007. – T. 134. – №. 6. – C. 1191-1201.
145. Miller D. J., Miles A. Homeobox genes and the zootype //Nature. – 1993. – T. 365. – №. 6443. – C. 215.
146. Minguillón C. et al. No more than 14: the end of the amphioxus Hox cluster //International journal of biological sciences. – 2005. – T. 1. – №. 1. – C. 19.
147. Minguillón C., Garcia-Fernández J. Genesis and evolution of the Evx and Mox genes and the extended Hox and ParaHox gene clusters //Genome biology. – 2003. – T. 4. – №. 2. – C. R12.
148. Mokady O. et al. Over one-half billion years of head conservation? Expression of an *ems* class gene in *Hydractinia symbiolongicarpus* (Cnidaria: Hydrozoa) //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95. – №. 7. – C. 3673-3678.

149. Monteiro A. S. et al. A low diversity of ANTP class homeobox genes in Placozoa //Evolution & development. – 2006. – T. 8. – №. 2. – C. 174-182.
150. Monteiro A. S., Ferrier D. E. K. Hox genes are not always Colinear //International journal of biological sciences. – 2006. – T. 2. – №. 3. – C. 95.
151. Mukherjee K., Brocchieri L., Bürglin T. R. A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes //Molecular biology and evolution. – 2009. – T. 26. – №. 12. – C. 2775-2794.
152. Müller G. B., Newman S. A. (ed.). Origination of organismal form: beyond the gene in developmental and evolutionary biology. – MIT Press, 2003.
153. Murtha M. T., Leckman J. F., Ruddle F. H. Detection of homeobox genes in development and evolution //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1991. – T. 88. – №. 23. – C. 10711-10715.
154. Naito M. et al. Presence of eight distinct homeobox-containing genes in cnidarians //FEBS letters. – 1993. – T. 333. – №. 3. – C. 271-274.
155. Nijhout H. F. Problems and paradigms: Metaphors and the role of genes in development //BioEssays. – 1990. – T. 12. – №. 9. – C. 441-446.
156. Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila //Nature. – 1980. – T. 287. – №. 5785. – C. 795.
157. Ogishima S., Tanaka H. Missing link in the evolution of Hox clusters //Gene. – 2007. – T. 387. – №. 1. – C. 21-30.
158. Oliver G. et al. Homeoboxes in flatworms //Gene. – 1992. – T. 121. – №. 2. – C. 337-342.
159. Pennisi E. Genome duplications: The stuff of evolution?. – 2001.
160. Peter I. S., Davidson E. H. Evolution of gene regulatory networks controlling body plan development //Cell. – 2011. – T. 144. – №. 6. – C. 970-985.
161. Phillips T. Genetic signaling: transcription factor cascades and segmentation //Nature Education. – 2008. – T. 1. – №. 1.
162. Pollard S. L., Holland P. W. H. Evidence for 14 homeobox gene clusters in human genome ancestry //Current Biology. – 2000. – T. 10. – №. 17. – C. 1059-1062.
163. Popodi E. et al. Sea urchin Hox genes: insights into the ancestral Hox cluster //Molecular biology and evolution. – 1996. – T. 13. – №. 8. – C. 1078-1086.
164. Pratlong M. et al. Monophyly of Anthozoa (Cnidaria): why do nuclear and mitochondrial phylogenies disagree? //Zoologica Scripta. – 2017. – T. 46. – №. 3. – C. 363-371.

165. Prince V. E., Price A. L., Ho R. K. Hox gene expression reveals regionalization along the anteroposterior axis of the zebrafish notochord //Development genes and evolution. – 1998. – T. 208. – №. 9. – C. 517-522.
166. Putnam N. H. et al. The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype //Nature. – 2008. – T. 453. – №. 7198. – C. 1064.
167. Quiquand M. et al. More constraint on ParaHox than Hox gene families in early metazoan evolution //Developmental biology. – 2009. – T. 328. – №. 2. – C. 173-187.
168. Rabbitts T. H. Chromosomal translocations in human cancer //Nature. – 1994. – T. 372. – №. 6502. – C. 143.
169. Ray R. P. et al. Intercellular signaling and the polarization of body axes during *Drosophila* oogenesis 1711 //DEVELOPMENT. – 1996. – T. 10. – №. 14. – C. 1711-1844.
170. Reddy P. C. et al. Evolution of Hox-like genes in Cnidaria: Study of *Hydra* Hox repertoire reveals tailor-made Hox-code for Cnidarians //Mechanisms of development. – 2015. – T. 138. – C. 87-96.
171. Ringrose L., Paro R. Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity //Development. – 2007. – T. 134. – №. 2. – C. 223-232.
172. Rinn J. L. et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs //cell. – 2007. – T. 129. – №. 7. – C. 1311-1323.
173. Ruvkun G., Hobert O. The taxonomy of developmental control in *Caenorhabditis elegans* //Science. – 1998. – T. 282. – №. 5396. – C. 2033-2041.
174. Ryan J. F. et al. Pre-bilaterian origins of the Hox cluster and the Hox code: evidence from the sea anemone, *Nematostella vectensis* //PloS one. – 2007. – T. 2. – №. 1. – C. e153.
175. Ryan J. F. et al. The cnidarian-bilaterian ancestor possessed at least 56 homeoboxes: evidence from the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis* //Genome biology. – 2006. – T. 7. – №. 7. – C. R64.
176. Ryan J. F. et al. The homeodomain complement of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* suggests that Ctenophora and Porifera diverged prior to the ParaHoxozoa //EvoDevo. – 2010. – T. 1. – №. 1. – C. 9.
177. Sanders S. M., Cartwright P. Interspecific differential expression analysis of RNA-Seq data yields insight into life cycle variation in hydractiniid hydrozoans //Genome biology and evolution. – 2015. – T. 7. – №. 8. – C. 2417-2431.
178. Schierwater B. et al. Homeoboxes in cnidarians //Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. – 1991. – T. 260. – №. 3. – C. 413-416.
179. Schierwater B. et al. The early ANTP gene repertoire: insights from the placozoan genome //PLoS One. – 2008. – T. 3. – №. 8. – C. e2457.

180. Schierwater B., Kamm K. The early evolution of Hox genes: a battle of belief? //Hox Genes. – Springer, New York, NY, 2010. – C. 81-90.
181. Schierwater B., Kuhn K. Homology of Hox genes and the zootype concept in early metazoan evolution //Molecular phylogenetics and evolution. – 1998. – T. 9. – №. 3. – C. 375-381.
182. Schummer M. et al. HOM/HOX homeobox genes are present in hydra (*Chlorohydra viridissima*) and are differentially expressed during regeneration //The EMBO journal. – 1992. – T. 11. – №. 5. – C. 1815-1823.
183. Scott M. P. et al. The molecular organization of the Antennapedia locus of *Drosophila* //Cell. – 1983. – T. 35. – №. 3. – C. 763-776.
184. Sebé-Pedrós A. et al. Unexpected repertoire of metazoan transcription factors in the unicellular holozoan *Capsaspora owczarzaki* //Molecular biology and evolution. – 2010. – T. 28. – №. 3. – C. 1241-1254.
185. Sekigami Y. et al. Hox gene cluster of the ascidian, *Halocynthia roretzi*, reveals multiple ancient steps of cluster disintegration during ascidian evolution //Zoological letters. – 2017. – T. 3. – №. 1. – C. 17.
186. Seo H. C. et al. Hox cluster disintegration with persistent anteroposterior order of expression in *Oikopleura dioica* //Nature. – 2004. – T. 431. – №. 7004. – C. 67.
187. Seo H.C., Edvardsen R.B., Maeland A.D. et al. Hox cluster disintegration with persistent anteroposterior order of expression in *Oikopleura dioica*. // Nature. – 2004. – V 431. – P. 67-71.
188. Sharman A. C., Holland P. W. H. Conservation, duplication, and divergence of developmental genes during chordate evolution //Netherlands Journal of Zoology. – 1995. – T. 46. – №. 1. – C. 47-67.
189. Shenk M. A. et al. Expression of Cnox-2, a HOM/HOX gene, is suppressed during head formation in *Hydra* //Developmental biology. – 1993. – T. 160. – №. 1. – C. 108-118.
190. Sidow A. Gen (om) e duplications in the evolution of early vertebrates //Current opinion in genetics & development. – 1996. – T. 6. – №. 6. – C. 715-722.
191. SMART [Электронный ресурс], URL:smart.embl-heidelberg.de/ (дата обращения: 29.04.2018).
192. Spitz F., Furlong E. E. M. Transcription factors: from enhancer binding to developmental control //Nature reviews genetics. – 2012. – T. 13. – №. 9. – C. 613.
193. Srivastava M. et al. The *Amphimedon queenslandica* genome and the evolution of animal complexity //Nature. – 2010. – T. 466. – №. 7307. – C. 720.

194. Srivastava M. et al. The Trichoplax genome and the nature of placozoans //Nature. – 2008. – T. 454. – №. 7207. – C. 955.
195. Stauber M., Jäckle H., Schmidt-Ott U. The anterior determinant bicoid of Drosophila is a derived Hox class 3 gene //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – T. 96. – №. 7. – C. 3786-3789.
196. Struhl G. A gene product required for correct initiation of segmental determination in Drosophila //Nature. – 1981. – T. 293. – №. 5827. – C. 36-41.
197. Struhl G. A homoeotic mutation transforming leg to antenna in Drosophila //Nature. – 1981. – T. 292. – №. 5824. – C. 635.
198. Struhl G. Genes controlling segmental specification in the Drosophila thorax //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1982. – T. 79. – №. 23. – C. 7380-7384.
199. Struhl G. Role of the *esc+* gene product in ensuring the selective expression of segment-specific homeotic genes in Drosophila //Development. – 1983. – T. 76. – №. 1. – C. 297-331.
200. Struhl G., White R. A. H. Regulation of the Ultrabithorax gene of Drosophila by other bithorax complex genes //Cell. – 1985. – T. 43. – №. 2. – C. 507-519.
201. Sulston J. E., Horvitz H. R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans* //Developmental biology. – 1977. – T. 56. – №. 1. – C. 110-156.
202. Swanson G. J. Pattern formation. A primer in developmental biology. – 1985.
203. Takatori N. et al. Comprehensive survey and classification of homeobox genes in the genome of amphioxus, *Branchiostoma floridae* //Development genes and evolution. – 2008. – T. 218. – №. 11-12. – C. 579-590.
204. Tautz D., Schmid K. J. From genes to individuals: developmental genes and the generation of the phenotype //Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. – 1998. – T. 353. – №. 1366. – C. 231-240.
205. Taylor J. S. et al. Comparative genomics provides evidence for an ancient genome duplication event in fish //Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. – 2001. – T. 356. – №. 1414. – C. 1661-1679.
206. Taylor J. S. et al. Genome duplication, a trait shared by 22,000 species of ray-finned fish //Genome research. – 2003. – T. 13. – №. 3. – C. 382-390.
207. Ueno K. et al. Molecular analysis of the deletion mutants in the E homeotic complex of the silkworm *Bombyx mori* //Development. – 1992. – T. 114. – №. 3. – C. 555-563.

208. Wagner G. P., Amemiya C., Ruddle F. Hox cluster duplications and the opportunity for evolutionary novelties //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2003. – Т. 100. – №. 25. – С. 14603-14606.
209. Wang B. B. et al. A homeotic gene cluster patterns the anteroposterior body axis of *C. elegans* //Cell. – 1993. – Т. 74. – №. 1. – С. 29-42.
210. Wang K. C., Chang H. Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs //Molecular cell. – 2011. – Т. 43. – №. 6. – С. 904-914.
211. Weiss, P. (1959). Introduction by Paul Weiss. Developmental Biology, 1
212. Wray G. A. Transcriptional regulation and the evolution of development //International Journal of Developmental Biology. – 2003. – Т. 47. – №. 7-8. – С. 675-684.
213. Yanze N. et al. Conservation of Hox/ParaHox-related genes in the early development of a cnidarian //Developmental biology. – 2001. – Т. 236. – №. 1. – С. 89-98.
214. Zhong Y. F., Butts T., Holland P. W. H. HomeoDB: a database of homeobox gene diversity //Evolution & development. – 2008. – Т. 10. – №. 5. – С. 516-518.
215. Zhong Y., Holland P. W. H. HomeoDB2: functional expansion of a comparative homeobox gene database for evolutionary developmental biology //Evolution & development. – 2011. – Т. 13. – №. 6. – С. 567-568.
216. Андреева Т. Ф., Кулакова М. А. Нох-гены в индивидуальном развитии и эволюции билатеральных животных //Нох-гены в индивидуальном развитии и эволюции билатеральных животных. – 2008.
217. Бакаленко Н. И. и др. Нох-гены в развитии и эволюции билатеральных животных //Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. – 2004. – №. 4.
218. Бакаленко Н.И. Анализ экспрессии Нох-генов в ходе постларвального развития полихеты *Alitta virens* (Annelida, Lophotrochozoa), 2014
219. Корчагина Н.М., Бакаленко Н.И., Кулакова М.А. Нох-кластер и эволюция морфогенезов // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 5. С. 353–363.
220. Новикова Е.Л. Закономерности экспрессии Нох-генов в процессе регенерации многощетинкового червя *Alitta virens* (Polychaeta, Annelida), 2014
221. Олигокалькулятор сайта Биологического факультета БГУ [Электронный ресурс], URL: bio.bsu.by/molbiol/oligocalc.html. (дата обращения: 29.04.2018).

Приложение 1.

Последовательности праймеров, использованные в работе.

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер
FMRF-amide	ATGAAACTCACCTTGCAAATAG	CCGCTGTAAAAGCAGCAAAAAGTAGTT
Hox1	ATGACACCAACAGAATGCGG	CTAAGGCTTTGTGTTAATTACAA
Hox25	ATGGAGGGACATACCCACATT	TTAAGGTATCGAGCAGTCCGTT
Hox32	ATGAGCACTTACACAGGTCCAA	CTTTGGTTCTACGTTTTCAACAAC
Hox38	CAGAAAAATGTACTCGAACATGCA	AGTAAATATTTTGCCGTATCCTCG
Hox62	GATGTCGAAGAGTTTCTTGATTGA	ATTTAATGAGAAGCCGGCGAATTT
Hox81	ATGAGCAGTTACCTTGACGTCA	CCATTCTCCTTGAAATACAATCAATT
Hox85	GGTAATAGCGCATAATGAGTACTT	CCATTCTCCTTGAAATACAATCAATT
Hox93	TGACGATGTGGAGACCAAGTT	GGTGACATCATTTAGTGACAATCA
Hox95	CTATGTATTCTATGGGTATATAACGAT	CTATTTGTTTCGTCCTTCGCTGT
Hox96	CGATGAATTCAAACACGGTTCC	TACTCCAGTTCAACCACAGTTC
Hox101	GTGTCCAACATATCCGTATGGTT	GGGTGAAAGTCCTAGCAAATAAAT
Hox105	ATGATGTATCACCCCTGGTCTG	AGGCATTTTCACTTACTGTACATG
Hox110	ATGTCCAATTTACCATCGAAAATC	GGCAGAGACGTTTTTATGAATCAA

Приложение 2.

Нуклеотидные и аминокислотные последовательности генов, выявленные в транскриптомных данных *Aurelia aurita*, линия «Роскоф».

1) Hox1

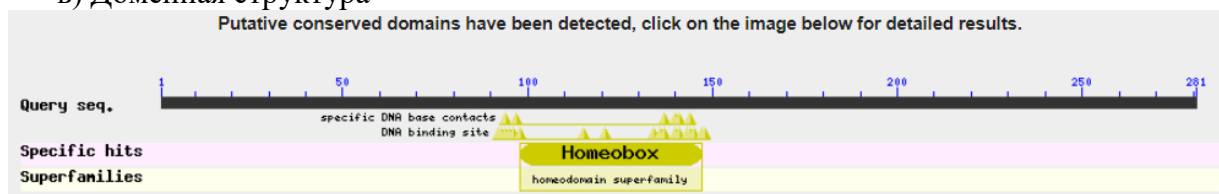
а) Нуклеотидная последовательность

ACTCGGTTTCATCCATCAATGTCTGCTAAGACATGAGGAACAAGATAAATCTTGGGGTGAAAACAACTTCA
TTCTTTGCAATCATTCAAAGGCAGTAAACAATAAAACGAAGCCAAAAAGTGCGAGATTTGAGGATTTTGTG
AGCCAAGGAAAATAATATCAAAAAGCAAAGGTTAACGAGGAGTCAGAGATGACACCAACAGAATGCGGTTTA
AGTAAGAATGACAGAAAAGGATTACGCAAAAAGGCCATTTTCAGATGGGGAACACGAGCAGAGACGCGGTA
CAAAAGCAAGGGACAAAAGCGAAGGGACGAAAAATGAAGAACCAGAAAAGAAAAAGGCCAAACAAACACA
GAGGAAAGAAAAATTTGATAGTTTATCCATGGATGTTGGAAACAAGAAGTAGCAATAAATGTATGCAAGAT
GGGGGGCAAAAAGATACAAAAGACAGCTGAGCAGAAAACAAGACAAAAGCAACCTAAATACAGTCACAGAC
AGTTATTTGAACTGGAGAAAGAATTTTCATACTTCAGCTTACGTCAACAATGCAAAGAGAAAAGAAATTGC
AAATCGATTGAACCTTGAAGAAAGACAGATCAAAATATGGTTTCAAAATCGAAGAATGAGGCTAAAAAAG
GAACAGAAATCAAAAGAAAAAACAAACGAAAAAGATCCACTAAAGGACAGCAAAATAAGTCGTGTTTTAC
ATTACTTCAGTGATGTCCCTAATGCAACGTCAAACTTGAATAAGTAACAAAGACTTGCAAGAACTTGA
TGAAATAATAACAAATATACAATTGAAAAGGTTACCAAACAAATCAGCAGATGACACAAGACTTGCACAT
AATATAAACGATCCAAACGCTTGTTCCTTATGCAGAAGTACCACCATTATTGAACACTCATAATGAAA
TGCCTACAAGACTGACACATTCAGAGAACAGTGGATTTGCTAAATTCCAAAGAGAACCCATTTCATAATAG
TTTTTCATCAAAAGTTTAAATAATCCTGGACATCATATGCAATATTGTAATTAACACAAAGCCTTAGAAATA
TTTTGTATCATATTTATGAGTTTTGGAATATTTATGAGGGTAAATTAAT

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MTPTECGLSKNDRKGLRKRPFSDEGENEQRRGTKARDKSEGTKNEEPPERKKAKQTQRKENLIVYPWMLETR
SSNKCMQDGGQKDKTAEQKTRQKQPKYSHRQLFELEKEFHSTAYVNNAKRKEIANRLNLEERQIKIWFQ
NRRMRLKKEQKSKEKTNEKDPLKDSKISRVLHYFSDVPNATSKLGISNKDLQELDEIITNIQLKRLPNKS
ADDTRLAHNINDPNACFPYAEVPLLNTHNEMPTRLTHSENSGFAKFQREPIHNSFHFQSFNNPGHHMQYC
N

в) Доменная структура



2) Hox25

а) Нуклеотидная последовательность

AGAAACAGTGGTAGAACACGCGGGTTATTTTTGTCAAGTGAAACCTCATCGAGTCGAGAAGACAGACAGA
CAGATAGACAAGGATAAATTGAAGTGATAGCTGACATAAGGGGTTTACGTATGGAGGGACATACCCACATT
GAAGACAACATGACAACACAACGTTTGTATTGGTATAGAAAGCAAAGGCTAACGCATAACGGACCATCAT
CGAGAAGTTACATGCCACATCAAACATCAAATATACCAGAATCGTATAGGCAAGATGCTAGCAGCTATAA
TACTACAATTGAATATAACAAAGCTGTTTGCCGAATACTACAACGAGCAATGCAAATGAGAGTGAAGAT
GTACGGTTAAGATCTTGTGCTGATTTGATCGAAACGAAAGATATCCCAGCAACACAACAATAGAATCTAAAG
ATGGCAAAAGCAACCAACGAAGAAAGATCTCAGTAACCTACCGCCTCTTGATATTTCCGAGGTTATTGA
AACTTTAACGACATTATCAAGTGAAGGGAACTTGGCAAAGGCAATACGTCACCGAAAGAAGGATCTGAA
GATGAAACTGTCAAAGTTAAGGAAGAAAGAGGAGACGAGCAGCCACCAAAATCATGGAGATCAGCGAAAG
TGAAAAAGCGAACAAGAACAACCTTATACAAGAGCACAACAAGTTGAGTTGGAAAAAGAATATCATTACAG
CAGATATATTTCAAGAGCTCGTAGAATTGAACTTGCAAGAGCGTTGAGCTTAAGTGAACGAGATGAAACGGACTGCTCGA
ATATGGTTTCAAAATCGAAGAATGAAAGAAAAGAGGGATGAGGATGAACGAGATGAAACGGACTGCTCGA
TACCTTAATTGACAAATAAATTTCTTTGTAACTCATTTGAAATGGGCTAACGTTGGTGAAATTTCTGAAA

GAAGGCAGTACAGCTCGTCACGAATTGGGAACAACAACCGGGTAACAAAGAAAAAAGTGAAACTTTTCGA
AAAATTGTCAAAATCTGATTTTTGTACCGATCATCAAAATTTCTTCACG

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MEGHTHIEDNMTTQRLYWYRKQRLTHNGPSSRSYMPHQTSNIPESYRQDASTYNTTIEYNKAVCPNNTTS
NANESEDEVRLRSCRFDRNERYPSTNTTIESKDGKSNQTKDLSNLPPLDISEVIETLTTLSSSEKLGKGN
SPKEGSEDETVKVKEERGDEQPPKSWRSKVKRTRTTYTRAQQVELEKEYHYSRYISRARRIELARALS
LTEKHIIWFQNRMRKEKRDEDERDETDCSIIP

в) Доменная структура



1) Hox32

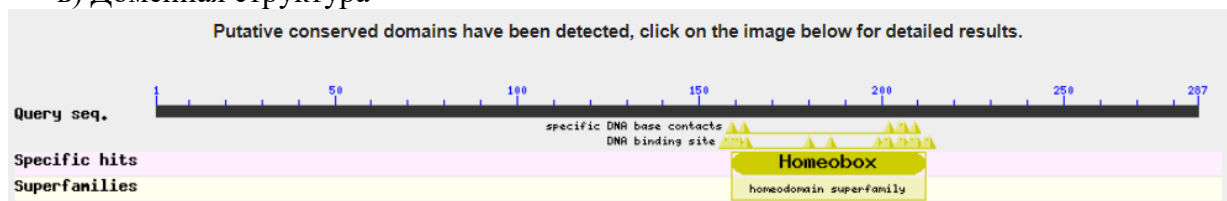
а) Нуклеотидная последовательность

GTTGCGGACAGTAATAGCGCATAATGAGCACTTACACAGGTCCAATGAAAATGCTTCAAGCGAAGACATA
TGCACSTTTAGCTGCATACAGTACGAAAGAGAGTAGCTGCTCAAACATCATGAACACAGATTATTGGAGC
AACAGTCATAAAATGCAGCCTTCGCCAGTTTATTTTAACTCTGCATCGCCCCCAATCAACAGTTATCCCG
CGAATTTCCCGCAGTACTGCCAAGCTCCAAGTCATCAGCAAGCCTCGCATTCAAGCACGATGAGCAGCTA
TCTTGACGCTAGCCAATCAAATACTATGCCAGTGTGCTGTCGTCAGCATCTATCAACGGGGCATTTTAC
CCAGAATTCAGTGGTCATGCAATTGCACCCGGTGATGTTGGTGGAATTTCCCATGCAGTTTCATCAGT
ATTCATGGCTGAAGAGTACTAATCCTGAATTTTGGTGAGTACCCCGGAGCTGTGAAGCCCCAGAAAG
ACGGCGCAAACGTACGGCATATACACGGAAGCAGCTTGTGAGCTGGAGAAAGAATTTCACTTTAATCAT
TTCTTAACGAGAGAAAGAAGACTTCAGCTGGCTACTAACCTAAATCTGACAGAAAGGCAAATCAAAATTT
GGTTCCAAAATCGTCGGATGAAATTCAGAAACGTGGATCGTCATCAGTGGACACGACAGAATTGATGCC
ATCTCCGGAACGGAGCAAAGAAAATGTGGATCGACCGACTCAATACTCTCAACATCAACAGAGGAAGAA
ACGAATGTAGAAGAAGGTATACTGACTGTTTCACAGCTACATCGAGCTCGTTTCAACCTGTCTTTCTTG
AACAAGAAAACACTGGTTACACATCAGACAAATTAGTGACATTTAAATATTGTTGTTGAAAACGTAGAA
CCAAAGTGAAATTTATTTATTTGAGAAAAAGAAGATTTAATTGTATTGCAAGAAGAACGATATGAATTCAT
GAAAACATTTGTTAGCATCATCAGCCATAGGGCCGGCATTTTTGGAATTTTGTAATAACATTTTCACACAAA
AAATTTATCTTTGGTCCGATAGCTACAAGTTTGTATTCTGTTAGCTGTTTTTACTCCCTTACGTTTG
ATAAATCGTCGTGAATTCATGACGAAAGGCGAAACTGCAAATGGTTATGGCCTAATTTCTATTCTTCAA
ATTTACATTTTGTATGTGCAGTACCCATTGTTTCGATGCTCTCAGAACGATGAAATGACCATCTAGAAGT
CATCAGGAACGAGCAACAATCAAGGACGTATGCAATGATTATAGACTGATTATATGGCCGTAGT

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MSTYTGPMLQAKTYAPLAAYSTKESSCSNIMNTDYWSNSHKMQPSPVYFNSASPPINSYPANFPQYQC
APSHQQASHSTMSSYLDASQSNTPSVLSSASINGAFYPEFSGHAIAPGDVGNFPCTFHQYSWLKSTN
PEFWWSTPGAVKPPERRRKRTAYTRKQLVELEKEFHFNHFLTRERRLQLATNLNLTERQIKIWFQNRMK
FKKRGSSSVDTTELMPSPELEQRKCGSTDSILSTSTEEETNVEEGITDCFTATSSSFQPVFPEQENTGYT
SDKLVHI

в) Доменная структура



2) Hox38

а) Нуклеотидная последовательность

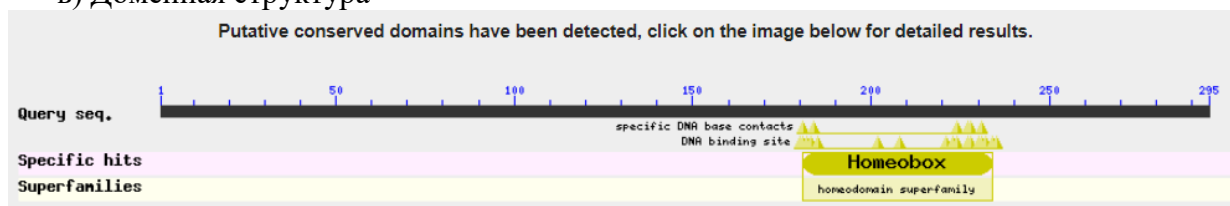
GCAAATAAATCGCAAAACAATGCTGATGAAATCGAACTGTCATACATGTGAGGACGGGCTCAGCAGAG
AGAAGGGGCAGCCTTTTAAATGAAGAGATCAATGCAAGAAAGGAAGATTTTTGAAATCATCAACGTGATA

ATCGTTCCTGCCAAAGCTACCAGAGGAGAGCTGGCGAAGGTTTCGTGATAGCAGTTGCTTGTGTTACTTGT
 GGCGAAATTCATTTTCAGAACAGAATCAGGTCGCGCAATTTTATCAGCTTTAGCAGACCTTATAATTGCAT
 CTTCAATTGCTATTGAATAAAGTCAAAGAACGAGGTTTTTATCTACGGTTTTTACCTACTTTAAACCCAGAT
 GCTCGCCTGGCATTTCATACACATTTATACGCTAGATCTCCGATCGTTGACACTGTTTTTAATCGAATCTG
 TCATACACCTAAGACATAGCTTTTTGGCATTGCAATTGGCTAAAGGCTTGAACGAACCAAAGGACTTACTT
 ATGGCAATTTGCACCTTCAAGCCCAGTGGCAGCAATATTTGAAAGATAAATTCGTTTCAGCAAGGGTGTAA
 CTTTGTTCCTCAGCCTGTGTGCCCATTGTTGGAGTAAAAGATAGTGCCTTATGGTAGCAGTCTGCTGA
 TGTAAAGGCCTCTGTAGTGCAGCATTTATCACTGTACCAAGCAGAAATCTTCAAACCTGATATCTCACTG
 TTTCATCCTATCTGAGCTATTTTTTTCAGCAGCAAAATATTGATAATTGAACTATAAACAATGTTTGGTAGT
 TGAGCCCTTATTCATTGTGTACAGTCCCAATCTAATGCATAGAAAGGTGCAAGGAATTTATCAGAAAAGC
 TGGAAACCATCGAATGTTTGATCAAGAGAAAAGCTTTACGAAAAGTTTCAAAGTTTGTATTATCATTTGC
 TTACTGTAACACAAAGATAGGACCATATATTATATGACAAATTCGAGGACAGAGATCTGGACAACCTGCAAG
 AAAAGACGACAAATCGAGCTGTATTAGACAGCTAGCCGAGAAGAGGTTTACAACCTTCAGAAAAATGTAC
 TCGAACATGCATCACGTATCCCCAAGAGACTTGAGTTTCATGCCGATACAGCTGCCATAGTTATCAGCATA
 CTCTGCAATATTTTCCGAACGGAATGCCGTACGATCCACAAGAGCCACGGCACCGCTCTCAAAACATGCA
 GGATCCAAACCAATATGACTATCTCCCCTACCAAACACGGTCCGACAGATACCAGCCTATGGACTACCAG
 GATAATAACAAGTATACCAATACTGTAACCAATAACTGGAAGAAGGGATCGACGGGAAAGAATGGCCAGC
 AAAGGAGATGCTGGAATACTGCAATTTTTCAGTGGATGAGCATAAAGAGAGAACGAAAATCTTCTGCGAC
 AACCGAACATGAAAAAGTTCAAACCAAGAAGCAAACACCAGATACCACAACAGAAGACGAAATACCAGAG
 AAGCAGACTCCTAAAGAGGGAGATAAAAGCGACAAAGCTGGTTCAGAACAAGGAGACCCAGAGCCCGAAA
 ATAAGGAGAAACCAGACTCAAACGGAGAACTGGAGCCAACAAGAAACGAGTCTGTTTCACACAGAAACA
 AATTGTGCAACTTGAGAAAGAATTCCATTTCAACAAGTATCTCACTAGAGCGAGAAGAGTGGAGATATCT
 CATGCTTTGCACCTCTCAGAATCACAATCAAATTTGGTTTCAGAATCGTAGGATGAAGTACAAGAGAG
 AGCAAAAAGAAAAGATGTCCCGAACAGAGAGAGACAAAGATAACATGGTGACAGTGCCACCAAATAGATG
 CCCCGTTTCTCTTGTGAGTATTCTGGATTTAATTATGGTTCACAATGGCCACATGCTTGTCAAGAACAG
 CCACCAATACTGCCTCCTATAACTCCTTTACAACATATTAGGTTTAGTTTTGAATTAATTACAGAAAAT
 AAACGAGGATACGGCAAAATATTTACTGAACTATAAACTCATCACAGAGAAAATAAAAACTCTATCCATG
 ACGAGCTAAAAATCACCATGCTGGGGGTGGGC

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MYSNMHNVSPRDLSSCRYSCHSYQHTLQYFPNGMPYDQEPRHRSQNMQDPNQYDYLPYQTRSDRYQPM
 YQDNKYTNTVTNNWKKGSTGKNGQQRRCWNTANFQWMSIKRERKSSATTEHEKVQTKKQTPDTTTTEDI
 PEKQTPKEGDKSDKAGSEQGDPEPENKEKPDSENGETGANKRVCFTQKQIVELEKEFEHFNKYLTRARRVE
 ISHALHLSSESQIKIWFQNRMRKYKREQKEKMSRTERDKDNMVTVPNRCPVSSCEYSGFNYGSQWPHACQ
 EQPPILPPIITPLQTY

в) Доменная структура



3) Hox62

а) Нуклеотидная последовательность

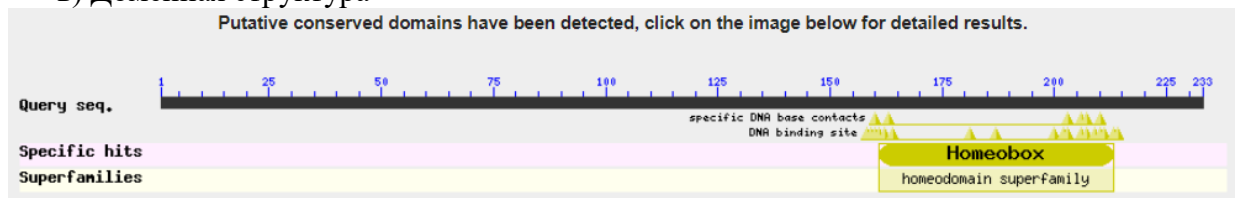
CAAGGCTCATTTGGAGAAGGTCGCTAGATTACGGGTGATATATACAAGCATTTAAGCACTTTACAATACCT
 GTACGCACCATTCAAACACGATTATATACGTTTCGAGTGCCAATATAAAGTTGATTCACGCTGAAAGACG
 AAGCACAACAGAAATAGTTTCATCATCTGAGAAAGAAAGATGTGCAAGAGTTTCTTGATTGATACGATCAT
 GCACAACCGACCAAAGATTGAGCCTATAGACCCACCGCCACCGCTTATCCCAAATGATCAAGCAAGCAGT
 CCAAGGCATTCAAGAACATCAAGTCCTGCAGCTATCTCCCCACCACAATCACCGCATCACAGTGAGAAAC
 GATACAACCTGCGAATCGACTTCATTCTGCACTTGTTCATGCCAAAATCACAGCAATCTTCATGCCAATG
 TCATATGTGCACCGATTTCATCTCCAATCAGCCCGATGTTCCCGTCCTATCCATATTGCTCGCCGTACAGA
 GAAGGTTCAATGAGTTCAAGGCATCAATTCGATAGAGAAGGGTACAAGATGTCCTACCCGACAATGAATA
 TTCACGATTGTCCACCGCATCTTCTACCGTCTTACATTCGTGAACTCGAAAATCGAAGACTGAAAGCACA
 AATGCAGTGTGGAATCAAAGCGCATTAGGACTGCATACACAAGCATACTTCTCGAGCTTGAGAAA
 GAATTTCAAACAACAGATACCTTTTCGAGGCTTCGACGAATTCAAATCGCTGCTATGCTCGACCTGACGG
 AAAACAAGTCAAATCTGGTTTCAAATCGACGTGTGAAGTGAAGAAGGACAAAAAAGTTTCTCAGGG

AAATGACATGGAATATCCAAATTCGCCGGCTTCTCATTAATGATTCTTCCAATGGTAGAATGCCAAGAA
 ACTCCACAAGTCAGTCATCTCGAGCCGTTAGCAAGGGAAAGCGTTTGGTCTGTGGGCAACGCCTTACAAG
 CAAGCAAGCAAGGAGAACTATACAGACAATAAAGGGGAGATGAAATTTGCGTTCGATGTGAAACTTTGC
 AAGCAGGGATTGACTTTGGAACAGAACTAAGAACGAGATGATAATTTAATGACGCGCATATGTTGTGT
 GAGTAGAGTGAAAAATATATAAAGTATTGCTGACAGCTGAAAGATATTTAACATTGTAAATATGAATTTA
 TGAAAAGAAAAATTGGTGTCAACTTGTCTGCATGAACATAAATATATACCTAGCTACATAGTCAACTATT
 TTGTTGTAAATCGATAAAGAATTATGTTCTCTTGAGCTAGTTACACCCAGAGTAAACTGCGTAAACTGC
 CCTCAGTAAATTGTGGAGTGAAATTATCCTCCTGAGGGGAAAAGCCGAAGGCGCGCATCAGCTGCATAGC
 TGCCTATAGCCTCAGCTTGCCTCAACAAATAAATTATGCTTGTGCTTGTGATTGAAATGCATTGGAAA
 GAAAGTGATCTTTGCCTCAATTGAAGACTTCGTCAGGAACTTTGAAGCTGTCTTGGCGCATTGTTGGGTGGA
 GTCAACAACCTCTGATTTTCAATTGCAAGCGATAACTCACTAAAAATGCGCTGGAATGAGTTAAGAAAATG
 CGTTACTCCAATTCTTACGCGTTTTTACTCTGGTATGAACCAAGCTTTAAAATATTACTACAATTTGATC
 CATTTTGTGATATATCTTGCACAAGCAAAATTACTTTCAGTTCCTCATGATAATTAAGCATTTAATGCGG
 GTT

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MSKSFLIDTIMHNRPKIEPIDPPPLIPNDQASSPRHSRTSSPAAISPPQSPHHSEKRYNCESTSFCTCC
 MPKSQQSSCQCHMCTDSSPISPMFSPYPYCSPIREGSMSSRHQFDREGYKMSYPTMNIHDCPPHLLPSYI
 RELENRRLLKAQMCGKSKRIRTAITSIQLELEKEFQNNRYLSRLRRRIQIAAMLDLTEKQVKIWFQNNRV
 KWKKDKKVPQNDMEYPNSPASH

в) Доменная структура



4) Hox81

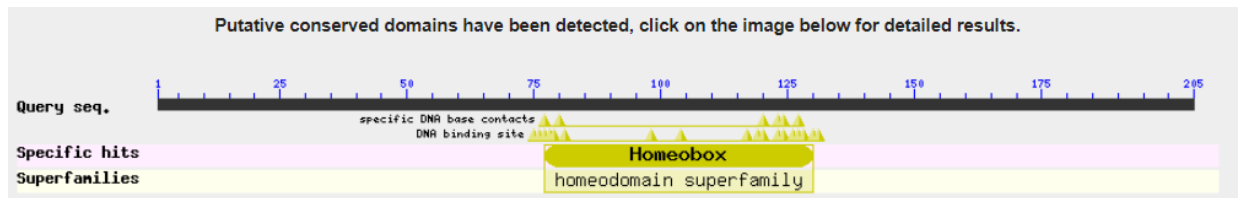
а) Нуклеотидная последовательность

GCTTCAAATGTGAATTCAGCTTAACTTCAGCTTTGAAACTTTTTTTCGGGCAATTGGTCGGGCATTTGGTT
 TCCAACAGTAGTTGCTAGTACTTAGTTTTAGAGTCCTCCAAAGTTAGTCGACGTCGAAAATGACCAAACCT
 TAGACCCTGCGACATAATTCTCCTAATTGTAGTCTTTTCTTGACAATAAACTAAATTTGTCCCGAATCTT
 TATTTTCAGCCTTCGCCAGTTTACTTCAACCCTGCATCGCCCCCAATCAACAGTTATCCCGCGAATTTCCC
 GCAGTATTGCCAAGCTCCAAGTCATCAGCAAGCCTCGCATTCAGTACGATGAGCAGTTACCTTGACGTC
 AGCCAATCAACTTCCATGCCAGTGTGCTGTCGTCAGCATCGATAAACGGGACTTTTTACCCAGAATTCA
 GTGGTCATCCCATCGCACCTAGTGATGTTGGTGGAAATTTCCCATGCACATTTACCAGTATTCATGGCT
 GAAGAGTACAAATCCGGAATTTTGGTGGAAATACCCCCGGGGCTGTGAAGCCCACAGAAAGACGACGCAAA
 CGTACAGCATACACCAGAAAGCAGTTGGTGGAGCTAGAGAAAGAGTTCCACTTTAACCATTTTCTGACAA
 GAGAACGCAGACTTCAGTTGGCCACGAATCTGAATCTTTCTGAAAGGCAGATCAAAATTTGGTTCCAGAA
 TCGTCAATGAAATTCAAGAAACGTGGATCGTCTTCAGTGGACACGACAGAATTGATGCCGTCTCCGGAC
 TTGGAGCCAAGGAAATGTGGCTCGACCGACTCTGTTCTCTCGACATCAACAGAGGAGGAAACAAACGTCTG
 AAGAAGGTATAACTGACTGTCTAAAAGCCACGTCGAGCTCATTTCAACCTGTCTTTCTGAACAAGAGAA
 CACTGGCTACACGTCAGAAAAATTAGTGCACATTTAAATATTGTTGTTTAAAAAGTAGAACCAAAATGAA
 ATTATTTATTTGAGAAAAAGAATAATTGATTGTATTTCAAGGAGAATGGTATGAATTATGAATTTATATT
 TAGGAATATTTTAACTGGGTACCAGGGCCTCGAGAAAGACTTAACAGCAATATTAAATCCGGAAAAAAT
 TATTTTATTTTATTTATTTTGTGGCCCTGGTACCCGGGCTACATAGCTGTTAGCATTTATAGCCACGC
 GGCCGCCATTTTGTAAAGTTTAAAGATTTTCCACACCGAAATTCATTTTTTTGTCTGAGTTTTTATGTA
 AACCAAGTGTTTCTTTATTTCTATTGGCTGTCCCAACAAAGATTCTGTATTTTTTGATCATTTTTTCGCGA
 ATTCGTAAC

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MSSYLDVSQSTSMPSVLSSASINGTFYPEFGHPIAPSDVGGNFPCTFHHQYSWLKSTNPDFWWNTPGAVK
 PTERRRKRTAYTRKQLVELEKEFHFNHFLTRERRLLQLATNLNLSEKQIKIWFQNNRMKFKKRGSSSVDTT
 ELMPSPDLEPRKCGSTDSVLSTSTEEETNVEEGITDCLKATSSSFQPVFPEQENTGYTSEKLVHI

в) Доменная структура



5) Hox85

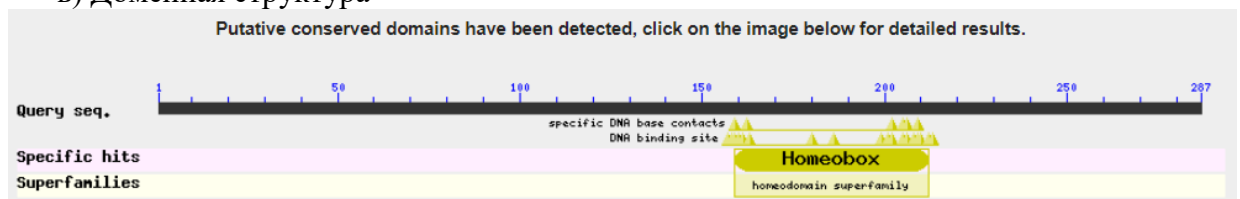
а) Нуклеотидная последовательность

CGTGACATCTAATTTGAGACTGACCTCGGTCGTAGCAAAAAACAGACTCGAAAAAGTGGAGCACTCGTGA
TTTTTTAGGAGCAATGAAAGAAAACCTAGTTAAAATAAAAAATATCTATGATATGAAATCTTACTGTAAAA
CTCAATAAGTGTCAGGGCCGAGATATATTTTCTTTTCGGACCGATCTTTGTTAGAGAGTTTAACTTGA
ACGATCTAAAGAAGGCGCATGCGATCATATTCATCACACATCATAACAGGGAACCTAGCCAGAAAAAGAA
CATTCGAAAAACAACCATGGTCCAAGTTGTCAGTGCTCAATCACACTTGTACCTATTGTCCACAAAAAA
TCACGCTTTTGTACATCAAAAGTTTGCCTGCCAGCGAAGTTTCAATGAAAGTTGCATTTTATTGTAT
TTCGCCCCGAAAAATAGCTTGTACACAATCATAGTGTTGTCTAGGGATTGTTTTTCGAGTTATTTCGTTGT
CTGTTGACATCATATTTCTATGGTTGACATACTTTCAAACATGTGCGCATGGGCCGTCGAATATTTTGTG
GTAAAAGGTTGTTGCGGTGCTTCTTTTCGTCATACGCCGAATTTAGGTTAGGGTAGCGGTTGGCTCACAGA
TTGCTGCACGAAAGAAATTCTGCGCCGGTTTTACCTTGTGCTATAACGACGTGACGCTTGATTTTGTAGT
GGCTATTTTCAAGAGGTTATTTAAAATTAAGTACAGCTCGTGCAAGGCAGTATAGTTGCGAACGGTAATAGCG
CATAATGAGTACTTACGCAGGTCCAATGAGAATGCTACAACCGAAGACTTATGCACCTTTAACTTCATAC
AGTACGAAAGAAAGTAGCTGCCCGACAATCATGAACACAGAGTTTTGGACCAACAATCATAAAATGCAGC
CTTCGCCAGTTTACTTCAACCTGCATCGCCCCAATCAACAGTTATCCCGCGAATTTCCCGCAGTATTG
CCAAGCTCCAAGTCATCAGCAAGCCTCGCATTCAGTACGATGAGCAGTTACCTTGACGTCAGCCAATCA
ACTTCCATGCCAGTGTGCTGTGCTCAGCATCGATAAACGGGACTTTTTACCCAGAATTCAGTGGTCATC
CCATCGCACCTAGTGATGTTGGTGGAAATTTCCCATGCACATTTACCAGTATTCATGGCTGAAGAGTAC
AAATCCGGAATTTTGGTGGAAATACCCCCGGGGCTGTGAAGCCACAGAAAGACGACGCAAACGTACAGCA
TACACCAGAAAGCAGTTGGTGGAGCTAGAGAAAGAGTTCCACTTTAACCATTTTCTGACAAGAGAACGCA
GACTTCAGTTGGCCACGAATCTGAATCTTTCTGAAAGGCAGATCAAAATTTGGTTCCAGAATCGTCGAAT
GAAATTCAGAAACGTGGATCGTCTTCAGTGGACACGACAGAATTGATGCCGTCTCCGGACTTGGAGCCA
AGGAAATGTGGCTCGACCGACTCTGTTCTCTCGACATCAACAGAGGAGGAAACAAACGTCGAAGAAGGTA
TAACTGACTGTCTAAAAGCCACGTCGAGCTCATTTCAACCTGTCTTTCTGAACAAGAGAACACTGGCTA
CACGTCAGAAAAATTAGTGACATTTAAATATTGTTGTTTAAAAAGTAGAACCAAAATGAAATTATTTAT
TTGAGAAAAAGAATAATTGATTGTATTTCAAGGAGAATGGTATGAATTATGAAATTATATTTAGGAATAT
TTTAACCTGGGTACCAGGGCCTCGAGAAAGACTTAACAGCAATATTAATCCGGAAAAAATTATTTTATT
TTATTATTTTTTTGTTGGCCCTGGTACCCGGGCTACATAGCTGTTAGCATTATTAGCCACGCGGCCGCCAT
TTTGTAAGTTTAAAGATTTTCCACACCGAAATTCATTTTTTTTGTCTGAGTTTTTATGTAAACCAAGTG
GTTTCTTTATTTCTATTGGCTGTCCCAACAAAGATTCTGTATTTTTTGATCATTTTTTCGCGAATTCGTAAC

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MSTYAGPMRMLQPKTYAPLTSYSTKESSCPTIMNTEFWTNHMKQPSVPYFNPASPPINSYPANFPQYQC
APSHQQASHSSTMSSYLDVSQSTSMPSVLSSASINGTFYPEFSGHPIAPSDVGGNFPCTFHQYSWLKSTN
PDFWWNTPGAVKPTERRRKRTAYTRKQLVELEKEFHFNHFLTRERRLQLATNLSERQIKIWFQNRMK
FKKRGSSSVDTTELMPSPDLEPRKCGSTDVLSSTEEETNVEEGITDCLKATSSSFQPVFPEQENTGYT
SEKLVHI

в) Доменная структура



6) Hox93

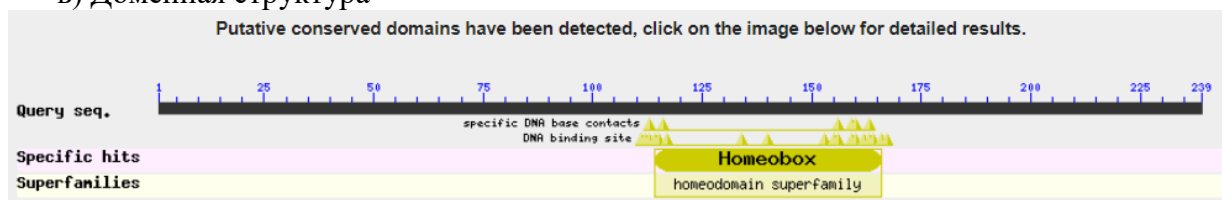
а) Нуклеотидная последовательность

TGCATGACTGAGTGACTGATTGCTTGCCTCCATGTCATATTGAATTTAGTAAACAAGTGCATCATTTCAA
 TAACATTGGTTGATCAGTATCAATACAGTATCAATATCAGAGCACGGTCAATACTTACTAAGGCTATCAT
 TTGCTTGGCAGGGAAATCACCTTGGTAGAAGAGGAAGATCATTCACTCAGCAAGGACAGTGACGATGTG
 GAGACCAAGTTCGTGCTGTTCTAAACATCCACCTTGCTACAGCAATTCATGCTTAATGGATTTCATCCAAA
 ATCTTCTCTGACTATGTACACCGATACCATAATCATCACAGCAGCGAGAGCAGTAGCCATCATTCACCTT
 CCTTCTGCAGTAGAGGACTCAGCAGGGGCCTAGATGGATATAGAGAAAAGTCTACCAAGTTATTCAAGTTA
 CTCAGCCTATTCGCCCCACTACCAACCATCGTGTTTCATATTGGCATTCTCGCATCGCAAAATACCATGAA
 GCAATCGCAGGTCCATTTGGATACCCTTATGCTCGTGATACAAACAAAAGATTCCGAACAAGTTTCACAA
 CAACACAACCTAACAGAACTCGAGAAAGAATTTTCATTACAATAAATATCTAACGCGACGACGAAGAGTTGA
 ACTTGCGTTGGGGTTAAATTTAACAGAAAAACAAGTGAAAGTTTGGTTTCAAATAGAAGAATGAAATGG
 AAAAAACAAATGAAGGTTGTGAGAGATGGAAATATAAAAAACGGAGCCACGGGATGATAGCACAGAAAATG
 GAGAGCAGGAAGAGACAGAGGAAGGAGATTTAAATGGGGTTGAAATTGAAATGATGATGATGATGATCT
 GGATGAAGAATCTGATTTTGGATGAAGAGAGAGAAGAACCAATTCATACAAACAATAATAACAATAAC
 AACAAACAGAAATAATTAGAACATGTTATTGTGATTGTCACTAAATGATGTCACCATTCCAAATAAGTGA
 GCACATATAACACTTTTGACAACGAGACTGCGATGGAGTGATCATTTGATTGTAGGTTTGGATCAAGAATGA
 AGATCTCAATGAATGAAGAACGGTAAGGACAGCAAAACGTTTCAACAACAAAACCAATAAAGCTGAAAGA
 TCGATAGCCTTCCAACGTATGCTATTTTCATTGTTCATCAAAGTAGTTCAAACCTGAAATTTAAATTGCAGAA
 TACAAAAATATGGAGTGCATATTATGTTGAAGGGATGTAAAAAGAAAATCTGAGTTGGCACAAGAACTGG
 ATTTCAAAACAAAAGAACATCGAAATTCCTTCAATAATAACAACAAAAGAAACATCGACTGCCTTCTTGCA
 TTGACCATTTTCATGAATATGACGTTTTTACGAAAGCACCTATAATATAGTTGACTTGGCTCTTTTACA
 AAATGGCATCGTTGTCCCAGTTGTACCTTACTGATGGCAACGAGCTACGTTTCTGAGAAGAAGCTTGCA
 CAAGCTATCTTGAATACAATCTAAAAAGGATTCTACAAGGTGAAGTGCAGAACTGTAAGTGCATATGATA
 TGAATAACTGCAGAAATTGTACATACATTAAAGATCTCAGACATAAGGCTCATGGAGCTGTCACATAAACC
 TTTCTGATGATTCGCACATGGATCATACTAATCTCAGCACAAGAAGATTCAAATCAAATTTGATCATAA
 AGTCTGGTTCTTAGTGATTTGCACGTTATGATTCAAAGAAAAGTGAATTTGAAAAGAAGTAAAATCAT
 TTAAATAAACTAGCAGCATCTGCATAAGTAAAAAACTGTTTAAATTATTAAAGAATTAAGCAAGCAT
 ATTGATCTGTATAAATAAAAAAACTATCTGAATTATCGAGGAAGAAAGAAAGCATCCTTCCATTCTAT
 GCAGTTATGTAAACGTAAAAATGTTTTTTCGTGGCTGAAATCGGTCCGTTCCAATTTTATAACGAATCTT
 CTCGAGGAGATCTCTTGAAAAACCTTGAAAATCGGTCCAACTGAGAGCCCAATTTCCCTGATATTTTG
 CTTTACAGCGATGACTTGAACAGGTTTTTAACAAGCGTTATCCCTTGGGAAAAGTGAAAAAGTCATCTCCA
 CTAGTGTAACAAATAAATTCTAGAAGATTTTCGTCTCTTAAAGAGGATAATACATGCTAACACAGGTAAC
 GTCATTGCTGTGAGGCAAATAACAGCGACAATATTCGACGATAATTTTGTGCTGCTTTTGAGAGTCTTAAG
 AAGTGAATAATTTAGGCTGGGCAAATTTTCGTATCTAATTGAACGTATCGGCTATAAAGAAAGACAATTG
 CCAATATCATTAATTCGCTATTCAGCGAACAGTAGTTTTTCAAACCTTCGCACCTTTTCACTCACCTGGT
 ACAAAGCCCAAATGTCGAAAAATTTCTATCTGGCACGCTGCTTAAATTTAAGACGGTTTATATCTTTTA
 CCTCGATTTATCTTGTATCTAAATAGACCTAGTAGGCAATTTTAAATCGTTTTTTTAGCTTCTGTCCCTT
 TTTAAATTTGATAGCATTTGTTTTTCGTCAATCTATCAGCATATAGGAATATAGATCATCGTAAACTTGT
 AAATAGAATTTTATGATTAAACATAAAGTTGTTGAACTTAGAAATCATTTAGACAACCTCATATCGAATCA
 TATTGTCAAATTTCAAAGCAGCTTCTAATAGATGAAGAGATGATATGATGAAGTTATGTAATAGTGTGGT
 GAGGGGTATCATGATTATCATGTCAAATAATTGATACTGAAAAATGAAATGACTTCTGTTTGT

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MWRPSSCCSKHPPCYSNSCLMDSSKIFSDYVHRYHNHHSSESSSHHSPSFCRGLSRGLDGYRESLPSYS
 SYSAYSPHYQPCSYWHSRIAKYHEAIAGPFGYPYARDTNKRFRTSFTTTQLTELEKEFHYNKYLTRRRR
 VELALGLNLTEKQVKVWFQNRMRKWKQMKVVRDGNIKTEPRDDSTENGEQEETEEGDLNGVEIENDDDD
 DLDEESDFDEEREPIPYNNNNNNNNKQK

в) Доменная структура



7) Hox95

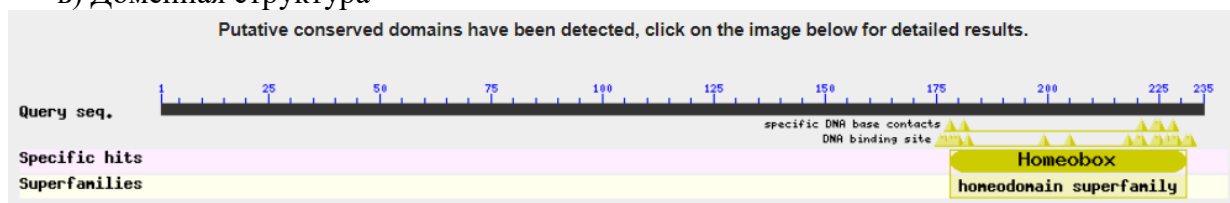
а) Нуклеотидная последовательность

GTTCTGGCGGGACGGCAGTACTTATGTGAAAGCGAATAACTTGTAAAAGACACTCTACAAAGCGTGCACG
 TTGCTCGCGTTAGAACCTCACAACAGCTATGTATTCTATGGGTTATAACGATAATCTTTCGCATTGCTCA
 TTTTGGGGAAGATCCCGGCACGAAAGCCAGGCTAATGGATACTATACTCCAATAAATCAAGCTTTCAGTA
 GCTTGGCTACTTCTAACCCCATATATCAACTTGAATCTATGGTCAGCCAGAATAGCTCAGTAGGTTTTGT
 TACAGCACGACAGAGCCAGCGAAGCTATCCGAGTTGTAGCCGGTATATGTATAATGGAGCTGGCTATCAA
 GAAACGCCGCAAAGGAGAGACTGGCAGTGGAGAAGACATAGCGATGAAGCACTGGGAGAGCTGTGTTCCCT
 GGCTGCAAGCTACCGAGTCGACGCTTTCGTCGCGTTTACCAACGAGAGGTGAAGCGAGAAGCAGTTGTGC
 CGTGATTAGGCCTACACATAAAGAGAAAAAGAAGGCTAGTTCGAATGAAGACAAGACGACGAAAAACAA
 GCTGAAACTCCGAAAAAGCCCGAGAAAGAGTCCAAAGTGCCCTGGAAAAAGTAGATCAACCCACGACAGA
 AAAGAAAAACATACACGCGACATCAGACTTTGGAGCTGGAAAAAGAATTTCTCTTTAATCAGTATTTAAC
 CAAAGAGCGACGGCGGGAGCTATCAAATAGCCTCGGCTTGACTGAGAGGCAGATCAAGATCTGGTTTCAA
 AACAGGAGGATGAAACAGCGAAGGACGAACAAATAGAGCCTTCTGGTCACATACAAGGATCACCAGTTTC
 CTTCATCTCTGTTTTTGGCTGTGCACATGGCTGGAACAGTTCAAAAAGAGGCTGACCTCTCAGAGGAAAT
 GTCTGGAGACGCCAGAGAGCATAGGTTTCTTAATCTTTAAAAAGGTTGGTGTA

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MYSMGYNDNLSHCSFWGRSRHESQANGYYTPINQAFSSLATSNPIYQLESMVSQNSSVGFVTARQSQRSY
 PSCSRMYNGAGYQETPQRRDWQWRHSDEALGELCSWLQATESTLSSRLPTRGEARSSCAVIRPTHKEK
 KKASSNEDKTTKKQAETPKKPEKESKVPWKSRSRTPRQKRKTYTRHQTLELEKEFLFNQYLTKEKRRRELSN
 SLGLTERQIKIWFQNRMRKQRRTNK

в) Доменная структура



8) Hox96

а) Нуклеотидная последовательность

CACACACTTGGAAGATAAAATTTGTTTCATGATGTTTTCGATGAATTCAAACACGGTTCCTGAACAAGGTT
 CGATAAATCAAATGGATGTTAATAGCATACCAAGAGTAGAAGATAATATCCCATATCTAAATGGAACAAA
 AGAAGAAAATCAAGCATTACCAACTTGTATGTTCCCTCAAATTGATGCGGCATTTGGAGTGATTGAACCT
 TTCGTGCCGCCAAGAAGCGGAGCACAGATAAGCTTGGGCGTAACTCAACCAATGCAATCGCCTCTACCAA
 CTGACACCAAGATGAACTCCGACAAATTCGTAAGCTGTTATGATCCTTCAACTTCATTGCTCCCATGGA
 ATTACCCTCACAGTTACAAAGGTCCACGCAAAGTCAAAGGACAATATCGAAAAATGGCTTCACTGTTTCAT
 CATCATCATACGAGTCACACAGTTTCAAGTTACACAGTTCAAAGTTACACAGGCCAAAATCAAATGTTCT
 TCCAATATCCAATACTACTAAACACAATGCATTCCAAAAACAAGATCGTGTACCATGGCAAACGCGACAGTC
 AACAAAAAGAAGAAAGAGGATGACATATTCTAATTCCCAGATACTTGAAGTAGAAAAAGAGTTCCGTGTAC
 CACCAATACCTGACGAAGGAACGAAGAAGTGAACTTCCGCTACCATCAAATTGTCAGAAAGACAAATAA
 AGGTTTGGTATCAAATCGGAGAATGAAATCCAAAAAGAGGGCGGGAATTATGAGAACTGTGGTTGAAC
 TGGAGTATTTTATTTTGAATGTATGTATGTTTGAATGTAATGAAAAGTATGACGTAGAAACTATGG
 TCATATTGTAATCACATGTAAATTTTATCAAATTTACACACTAAACACTACACGACTTAAATAAAGCA
 CCGTTAAAAATATGGATTACAATTTACTTTTCGAAGCAATTCGAACTTCATCGTCAGAAAGTAAACGTTA
 CAAAAGCACAGGGCTACGGCTACATTTATATTCACAAAGACAATACACAATAAAAGTGCATGTTTACAA
 TTCTTACGTGTAAAGAAACGAAACGGCAAGCCCGAAAACACTTAGAAATTTTCAAACGACCCGGCGTGAC
 CTGATTGGTTGATGCGGTCCAGAGGGCGGAGGACTTCCTTTTATTTTCTGACCTGCTTTATCTATTCCC
 AAATGCTCCCTGTCACGTGTAATCAAATTAGGAGATGTTTTTCCGAAGTACGAGGCATTGCAGCCATTTG
 TAAACAACAACAGAGGAGTGACGAGAGCTGTAAAGCGGTCTTTAAATGGAAAAATGACTATATTCGTTT
 AGGAGTTCGGATTGCACGAGGGATAGCATTGCTTAATCATTCTATAGATTTTAGTTTAAATCTGTAAACT
 ATACCTGCCTAGATATGGCATACAAAGTTTCTATTTTCTGAAAATGTTGCTAAAAATCACTTTCGTGAAC
 AAAGGATATATACACTGGAAAAATTTACTGAAAATATTGGAGCTTCTAAAAATGCATCCGAAGAATGCAGA
 ATGCAGCTCTTCTTTATTTTGAATTTATGAAAAGGGGATAATCTAACACTATGACCGATTGGCAATTCC
 GTACGTATTTGGTCTTTAGCGGGTAGCATTTAGCGGGTAGCATTACGCGGGCGCATTACTCATTGTAGTT
 TTATTACAGGAGTGGACATTATCATAAAATATGACGTGCATTTGGTAACATTTATTATTTTCTAGCGGT
 AAACATTTCTGGCCTAATAAAATGTATCTTTCGATAGATATTAGGGTATGTACTGACTTTAATTTCTGTG
 TGAAAGTTTTGGTGATGGTATGTCAATCTATTATAATAATAATAATAATAATA

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MMFAMNSNTVPEQGSINQMDVNSIPRVEDNIPYLNKTKEENQALPTCMFPQIDAAFVGVIEFPVPPRSGAQ
ISLGVTPQMQSPLPTDTKMNSDKFVSCYDPSTSFARMELPSQLQRSTQSQRITISKNGFTVHHHHTSHTVR
SYTVQSYTGQNQMFFQYPTTKHNAFQKQDRVPWQTRQSTKRRKRMTYSNSQILELEKEFLYHQYLTKERR
SELSATIKLSEERQIKVWYQNRMRKSKKRAGNYENCG

в) Доменная структура



9) Hox101

а) Нуклеотидная последовательность

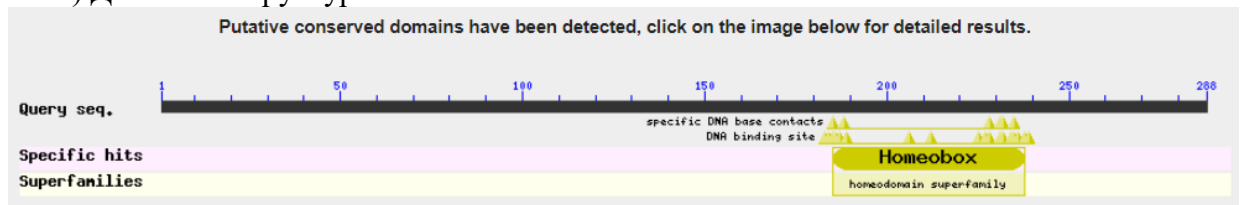
CCTCGCTCACAACCTGCAAAGATACAAAACCTGAGTGGTCACAACGAAAACGTCATTTCGCTTTTGTTC AAGG
CAAGACAGAGCCGGCGTCTAGATTGCTATATATACCCAGAACTGCATACCAGTCACTCAAGTTCAGTGC
ACAGAGCATTGCAGAACGGCGCACCTCAAAAACAAGTAGAGAACATTGATAAAGACAAGAATCTATCAAA
CTTGAAAGCAGTCATAAAGAGAGAGAGAGCTCTTTGAAGCAAGAAACAAACACAGTTT TAGAGAGAGAAA
GGTTTCTTTTACAGCAAATATTTCAAATCGATAAGCATCAACTGGAATTTTAGCATTCGGCACATTTTCC
TGTCGAAATACCACACATTTTCTTCGAACTGCGTAACATTTCCATCAAAGATCTTCAGTACCTGCAGCT
GGTAATCCCAGTGTCCAACCTATCCGTATGGTTTGGATACACGATTCCCTCCGATGAAATGGAACCTCCCAA
GGCTCTGCCAATTGATTGCTCTCCATACCTCAACGGAATGAAGACAAGTCCCACGTATCAGCCCTACGAA
TCACCAACAACCTACTCTGGGCGACAACCGATACAAAACGCGCTTTCCACCGGCAACTTCATGACGGGCC
GATACAGCAACCCAACCTCTACCGTTCAGTGAACAAAACGCAGATTTAAACCTTCCCGAACCTTGCACGAC
GTCGTCGATAGAGAGTTTCGTTCTCGCAACCAACGACAGCCTTTGGTGAAGTCGCAATTACGACGCCGCAA
CAACAAGTTTTCGTCGCAAAGTGTCATGTTTAACTCGAATTTCTACGCATCGCAACAAGCCTACAACCCAT
GGCAGCAATATGCACCAGGTGTTTCGCCGGGATATCCAGGGTACACATATATGGCGCAAGGAATGTCGAA
TCCGTCGGGTACGGCTACCCCATCATAAACAATGCATCGCTTGCTGCTGGCGTTCCCTGGCTATATCGT
GATGTTGACGCAAAGCGAAAACGTATGACATATTC AAGAAAACAACCTCCTTGAGCTTGAAAAAGAATTTT
ATTACAACCACTTCGTGAAGAAAGACAGAAGATCAGAGCTGGCTAAAATGCTGAACCTCACAGAGAGACA
GATCAAGATTTGGTTCCAAAACAGACGCATGAAGTTCAAGAAAGAGTCGAAACGGGCGCAAGAGAAATTG
GAACGAGGAGAACACGGAATAACCACAAAAGAAAGAAAGAGAAAAGGAGATAATGACACAGGAAAGAAAG
ACATCAAAACAGAATCTTCTTCGGTAGAACATTTTTCAGATGATTAACATGTAAATTCATTAGATAGGTTT
GACATAGTTTATTTACATAGAGAAGATATTTATTTGCTAGGACTTTTACCCTTTTCATGGCAGAAGGCAGC
ATTTTATTTAAACCCGATTTAACTTAGGTTTAGAGGTAAGATGGGATCTAGATTTATAACCTAAGTCTCT
AATGTCCCTACATTAAACCTTGCTCAAAAAGGACTCAAAATGAAACAGTGTAAGAGATGACCCTGCTTAGG
CCCATTCTGAGCCATCACGTCGCTCGCAGAGTCGAAATGGAGCAAACGTCCCATTTGGCAGACCGTTAAT
GACAAAATTTATCATACTTAAATGGGAGAAAGTCCACACTACCGATTGAATTTGTTGAATCTTACGAGC
CTATTGCCGAGGGCCTAAATAGGGTCGAGTTTTTTCACAGTAATATTATGAGCCTTTGCTGACTGAGTTGA
TAAGTCTAGAGAACAACACTACAAGAATTCTACAGTGGCTTTACAACCTCGCTCTGCATCTCATAAGTAAC
TGTTTCAGTCACTTCTTGTGCTGCTGACTGACAAAAGCTGGCCTCTTTTGTGCTTGGCAACCAAAATGCCA
TGATTTCTGAGGTATATGTTGAGGGCAGAATAGCCTAAGGCGAGAACACGGTGAATAACATCCTTTCCC
CAAAATGCTTAAATCTCCATGATCCATATTGACGCGTCATCCAATTTACTGCTATCTCCTTGCCAGATAT
AGACTGATAACAAGTCTCCAGTATCAATTTACACATCTTTGATACGCTGATTCTTTGCCTTATAGATATA
GACGAGCAGTTTATATGCTACTTTTGTGCTATATGTAAATAGACATGATCATGTAATGTATTTAATGTAT
TTGTATTTTAAACCAATTGGTTTTACTTTTCTCCATGCTAGATGCCATCCCCGCAATTTTATTCCAGT
GTGAACCCCTTATCTATGCTTCCCTCCCGAATCCCTTGAACCCCTAATGATTCCACATCACC AAAAGACT
AATTTTGCTTATCAGTTCAGTAGAGCATTAGACGTTTTT TAGCCCCCTCCAAAGATATGTAAGGACAGAAA
CACCCTGCTTTTAAAGCTATGCTCTCAGTAGAGTGAAAACAAATTAAGGTTGGGATAACACCATTTTCTA
GTTTAGATCACTTTT CAGTAGTTTTTGTCTCCAAATCAAGTCAGAATTTTTTGTCTATCCAGATGCGGG
AGGCCACCATTACAGCTGAAATTGCAGAAACATTATTTTCGAC

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MVWIHDSSEDEMELPKALPIDCSPYLNKMTSPTYQPYESPTTYSGRQPIQNALSTGNFMTGRYSNP TL PF
SEQNADLNLPEPCTTSSI ESSFSQPTTAFGEVAITTPQQQVSSQSVMFNSNFYASQQAYNPWQQYAPGVS
PGYPGYTYMAQGMSPSGYGYPIINNASLAAGVPWLYRDVDAKRKRMTYSRKQLLELEKEFHYNH FVKKD

RRSELAKMLNLTERQIKIWFQNRMRKFKKESKRAQEKLERGEHGITTAKERKRKGDNDTGKKDIKTESSSV
EHFQMINM

в) Доменная структура



10) Hox105

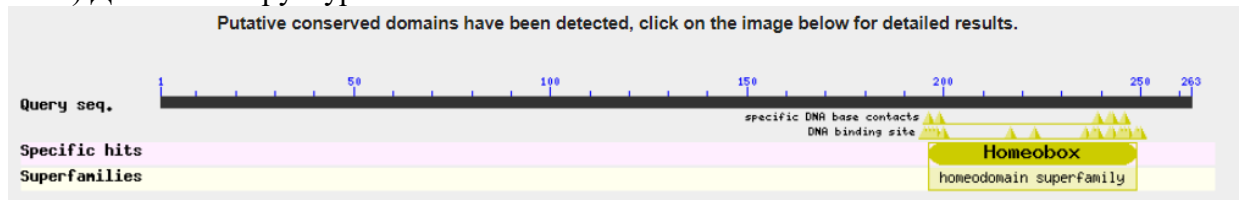
а) Нуклеотидная последовательность

AATATCTTGGCGTTTCCTGTGCTTGCATTCGCTGTCTGGCAGACAGGCCGCACAAAACTGACAGACGTG
CTGACATTATTAGCTGCAAAATTGTACCCCACTTGAACAGTGTTTTATACGCTACTGGCTACCCACCA
GCGGGTAGTGGTCGATCGCGCATTTAGAGTACATAACAGTCGGCGATACACCTACGTTGCCAGTCTTTGT
TTTGTCGTGGTGGGCAGCCGAGTTCTACTCCTCAACCATGATGTATCACCTGGTCTGTACAGTCAACGA
GCGTATACGGGCTATAATGGATACCCATACACAGATACGTACAATCAAAACAGACAGACAGCATAACA
ATCTGGAAAGTAATAATAAATACTTTTATCAAAGCGGCTTTCACAGGAATCTTACTCGACTTACCGTGA
GCAGCAGAGAGGTGCAGGAACATATGAACAACGCGTTCCGCAGTTAGAAAACCTTTATCCACACCAACAA
GATCGAAATAGCCTTACATCATTATATGGTAGGCATTATGAAGGATACAACAACTCGACGAGTCAAAGTT
CTCAAATTTATAACAGCGCCTTCGACTATAAATCAACCTCAAGTGCATGATGAGTAGAAATGGCGTTTC
TGAGCACAGTGACAACAAGTATTTTCTCCGTGTGCCTTGCAGTATTATGAACTGATGGCGACAGTGTT
GAAGACGATGAGTTAGCAGAGCAAAGGACCCCTTGTGCTTATGCAACGTCATACTCTGGAACAGCCTTA
AATACGATACCGAAAAAGCTCCACAAGCACCGTGGGAATCTCGCCAGAAATCACGACACAGGAAACGGAT
GACATATTCTAGAAACCAAAATCTGGAGCTTGAGAAAGAATTTCTGTACAGCAGATATTTAACGAAAGAA
CGAAGAAAGGACCTTTCTGACACACTACGACTGACAGAACGTCAAATCAAAATTTGGTTTTAGAAATCGAA
GAACAAAATCGAAAAAGGAAAGAAAAACGCAATTGAAAGAACTCAAGCAGACTCTTAAGGACATTGTTG
CATGTACAGTAAGTGAAGTGCCTTATTGGCACCTGACGTGAGGCTCATGTGGCTTTCTCGATTTTATTT
AGCGAATAATTCGCTTCGATCGCATGAACCTACCCGAACCTACCATGTACCAATGCTTAGTGCCAAGCG
CCTAGTGCCATGGAATAATACGTCTTTAAACCCAACAACGAATATTACGCTGAACAGCTTTATGATTGCT
TTGGGTTATGACTTCTCTGTCTCTCTCTCTCTGCGTCTCTCGTCTTTCTTAACCATCTTTACTTCATG
ACTTTCATAAACGGTACGAATTAGCCTTCTCAATTCTTGTCTGTTGTCTACAACAGTCTTCCATCTAATA
TAAACACACTTTTTTGC

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MMYHPGLYSQRAYTGYNGYPYTDYTNQNRQTAYNNLESNNNNFYQSGFQQESYSTYREQQRGAGTYEQRV
PQLENSYPHQDRNSLTSYGRHYEGYNNSTSQSSQIYNSAFDYKSTSSAMMSRNGVSEHSDNKYFPPCA
LQYYETDGDSDVDELAEQRTPCAYATSYSGNSLKYDTEKAPQAPWESRQKSRHRKRMITYSRNQILELEK
EFLYSRYLTKERRKDLSDTLRLTERQIKIWFQNRRTKSKERKTQLKETQADS

в) Доменная структура



11) Hox110

а) Нуклеотидная последовательность

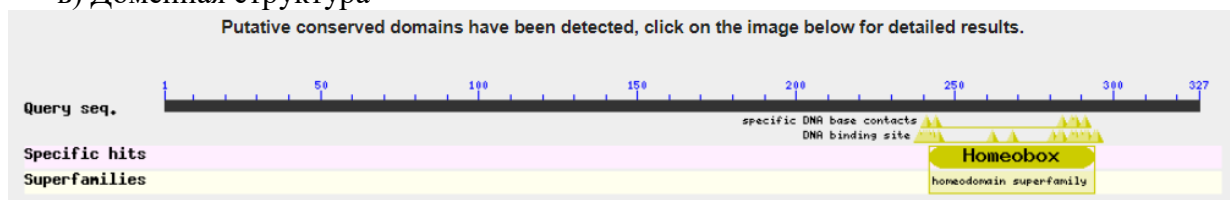
TTTTATGTATGCACAAGGTGCTGGCATCAATAACAACAAGCTCGTGCCCATTTCACTCATTCGAGGCAG
TATTTCTATCGGCAGTACACAGAGTGTGATACAGTGTAATGAGAAATGTAATCAAGTTTGCTATTAGCAA
CATCAGTATGTAGTCACTTAGAATTCGTATGATTACTGGTCATCGTGAAGCAAAAGCAAAGAATCTCAAT
GAGTCAAGACAAATAGCAAAAACCTGGCCTCACACTTAAAAGGCCTCTATTATAAATCGAGGATGTCCAA
TTTACCATCGAAAATCTGCTTGCAGGCAAAACATGGCCAGCTAAAGGAAGAGCCAAAGCACATGCCA
GTGCTAACCCATGCAGTTGAAAAGCAAGAACACTTTGGAGCACAAAACCTGGTGCAGGAATCCCACAAGAA

TCAGGTCTAGTGATAATACTTCTCCTTTTGAATGGAAGCAAGGAGAAACATGCGAACAATGCTGCACTGT
 GGACTATACACCCAAACATCCAAGCATCCGTAAGGTAGACTACGCAGCTTGTTTTGTTGATCGCAAAGAC
 AGAAAACATTTCAGATCAGGGCTCGGACCGTTTGGATTGTCGATCCAATGAGAGAAACTGGCAGACTTATG
 CAATCGGTCACTGGCCTAAAACATGCCCCAGCATTGTGACTTGTTTTGCACAATACAGAAAACCGTTCCA
 GACACCAACTGAGACCGGCCTTGCAACTATGCCACCTTCGTTTCGTGGAACAGATTTTGTGAAATGCATC
 TCTTGAGAAAAATTGTCAGTGGATGACAGGGGACAAGAGATCAGAAGACCTGTTCTGTGTACGAATACA
 AGAATGCGGGTTACGACGGTAGTGATGGAAGAATACGAAAAGAAGGAGATCAGACCGAGAAAACATGCGG
 AACATTTGACTGGATGACCAACCCAAGACCATTTTACAAGAAAGATAGCAAAAGGCATCTCAAACATCCA
 GATTCGAAACGAGACAGGACAACATTCAACAAGAGGCAACGAACCGAGCTGGAAAGACAGTTTCAAAGTA
 GCCGGTATCCTTCCCGTTATCAAAGAGCGCAAATCGCAAGATTTCTGGACCTTACCGAGTTCCAAGTGAA
 AGTATGGTTTCAAACCGACGAATGAAGTATAAACGCTGGAATAGTGCAACGAAACATACTAATACTGTT
 TTACCATCGTGTTATTGTTCTCACGCTTGGCAAGATCGTAACAGAACAACGAATCTTGATTTCATAAAAC
 GTCTCTGCCGGGAGATCCAGAAAAAATTTCACGAGCTAGTA

б) Аминокислотная последовательность рамки считывания

MSNFTIENLLAKPKHQLKEEPKHMPVLTHAVEKQEHFGAQNWCNPNTRIRSSDNTSPFEWKQGETCEQC
 CTVDYTPKHPSIRKVDYAACFVDRKDRKHSQQGSDRLDCRSNERNWQTYAIGHWPKTCPSICTCFAQYRK
 PFQTPPETGLATMPPSFRGTDVFKCISWRKLSVDDRGQEIRRPVPVYKYKNAGYDGS DGRIRKEGDQTEK
 TCGTFDWMTNPRPFYKKDSKRHLKHPDSKRDRTTFNKRQRTELERQFQSSRYPSRYQRAQIARFLDLTEF
 QVKVWFQNRMRKYKRWNSATKHTNTVLPSCYCSHAWQDRNRTTNLDS

в) Доменная структура



Приложение 3.

Номера доступа последовательностей гомеобокс-содержащих генов, используемых для филогенетического анализа

Вид	Ген	Номер
<i>Acropora formosa</i>	AfoAntpC	Q7M3U4
<i>Acropora millepora</i>	AmiCnox2	AAK28380.1
<i>Cassiopea xamachana</i>	CxaScox1	AF124591.1
	CxaScox2	AF124592.1
	CxaScox3	AF124593.1
	CxaScox4	AF124594.1
	CxaScox5	AF124595.1
<i>Clytia hemisphaerica</i>	CheCdx	FJ392842
	CheGsx	FJ392846
	CheHox1	FJ392849
	CheHox9-14A	FJ392850
	CheHox9-14B	FJ392851
	CheHox9-14C	FJ392852
<i>Eleutheria dichotoma</i>	EdiCnox1	ABE68629.1
	EdiCnox3	AAB48008.1
	EdiCnox4	ABE68631.1
	EdiCnox5	AAB48010.1
<i>Hydra magnipapillata</i>	HmaCnox1	CAB88385.1
	HmaCnox2	AJ277388.1
	HmaCnox4	pirS39067
<i>Hydra viridis</i>	CviCnox1	CAA45908.1
	CviCnox2	CAI38829.1
<i>Hydra vulgaris</i>	HvuCnox1	CAB88384.1
	HvuCnox2	CAB87555.1
	HvuCnox3	CAB88385.1
<i>Hydractinia symbioloncarpus</i>	HsyCnox2	ABC00746.1
<i>Metridium senile</i>	MseAnthox6	AY096246.1
<i>Nematostella vectensis</i>	NveAnthox1	DQ206287.1
	NveAnthox1a	DQ206337.1
	NveAnthox6	DQ206301.1
	NveAnthox6a	DQ206321.1
	NveAnthox7	DQ206311.1
	NveAnthox8a	DQ206299.1
	NveAnthox8b	DQ315389.1
	NveGSX	DQ206295.1
	NVHD065	DQ301955.1
<i>Podocoryne carnea</i>	PcaCnox1	CAA57211.1
	PcaCnox2	BAA94091.1
	PcaCnox4	AAK63185.1
	PcaGsx	AAG09805.1
<i>Trichoplax adhaerens</i>	Trox2	XP_002118201.1

Приложение 4.

Протокол *in situ* гибридизации, оптимизированный для *A. aurita*.

Подготовка образцов:

1. Расслабить животных в течение 5-10 минут в 7% растворе $MgCl_2$ на дистиллированной воде.
2. Зафиксировать в свежеприготовленном охлажденном растворе ПФА 4% на морской воде в течение ночи при 4°. В случае продолжительного хранения поменять ПФА на метанол и хранить при -80°.

1 день.

1. Промыть EtOH в течение 10 минут ○
2. Дегидратировать в этаноле пошагово:
 - 75% EtOH/ 25% H_2O в теч. 10 мин.
 - 50% EtOH/ 50% H_2O в теч. 10 мин.
 - 25% EtOH/ 75% H_2O в теч. 10 мин.
3. Отмыть в фосфатном буфере (РВТ) 10 минут.
4. Отмыть 3% раствором перекиси (H_2O_2) в течение 10 минут.
5. Отмыть в РВТ 3 раза по 10 минут.
6. Поместить в раствор протеиназы К (18,5 мг/мл) в РВТ на 10 мин.
7. Промыть в рабочем растворе глицина. 4 мг/мл в РВТ.
8. Поменять раствор глицина, отмывать 10 минут.
9. Отмыть в РВТ три раза по 10 минут.
10. Отмыть в растворе триэтаноламина 2 раза по 10 минут.
11. Поменять раствор триэтаноламина и добавить 2,5 мкл/мл уксусного ангидрида, выдерживать 5 минут.
12. Добавить 2,5 мкл/мл уксусного ангидрида, выдерживать 5 минут.
13. Отмыть в РВТ 3 раза по 10 минут.
14. Перефиксировать в 4% растворе ПФА на РВТ в течение ночи.

2 день.

1. Отмыть в РВТ 3 раза по 10 минут.
2. Отмыть в 2x SSC два раза по 10 минут.
3. Прогреть животных в 2x SSC при 70° на водяной бане в течение 20 минут.
4. Отмыть в растворе 50% 2x SSC\50% Hybridization solution (HS) в течение 10 минут.

5. Отмыть в HS в течение 10 минут.
6. Предгибридизация в растворе HS+tRNA = 20мкл/мл при 57° в течение 2 часов.
7. Поменять HS+tRNA из расчета 1 мл на 1,5 мл пробирку.
8. Добавить 2 мкл зонда (разведенного 1:50) к 50 мкл HSII (5x SSC, 50% Formamid)
9. Денатурировать зонд 3-5 минут при 70°. ○
10. Добавить весь зонд в пробирки с животными (финальная концентрация в пробирке – 1:25000)
11. Гибридизовать в течение ночи в 57° при постоянном перемешивании.

Преинкубация антител

Отобрать зафиксированных животных на тех же стадиях

1. Отмыть в PBT 3 раза по 10 минут.
2. Отмыть в MAB-T 3 раза по 10 минут.
3. Гомогенизировать животных в 1 мл MAB-B.
4. Добавить Anti-DIG AT из расчёта 0,5 мкл на 1 мл гомогената.
5. Инкубировать в течение 12 часов при 4° при постоянном перемешивании.
6. На следующий день - центрифугировать при 14000 g 10 минут.
7. Использовать супернатант (раствор с антителами) в нужном шаге в день три.

3 день.

1. Отмыть пробы с предварительно нагретым раствором при температуре гибридизации
 - 100% HS - 10 минут
 - 75% HS/25% 2x SSC - 10 минут
 - 50% HS/50% 2x SSC - 10 минут
 - 25% HS/75% 2x SSC - 10 минут
2. Инкубировать в 2x SSC+0,1% CHAPS 2 раза по 30 минут при температуре гибридизации.
3. Отмыть в MAB-T 2 раза по 10 минут при комнатной температуре.
4. Отмыть в MAB-B в течение часа.
5. Инкубировать в Blocking solution (80% MAB-B/20% сыворотки) 2 часа при 4°.
6. Добавить антитела из расчета финальной концентрации - 1:2000 в тот же самый раствор и инкубировать в течение ночи при 4° и постоянном перемешивании.

4 день.

1. Отмыть в MAB-T 9 раз по 20 минут.
2. Отмыть в NTMT 2 раза пять минут.

3. Убрать всю жидкость, добавить раствор NBT/BCIP в NTMT (1:50), инкубировать в темноте
4. Регулярно проверять степень окрашивания.
5. Как только степень окрашивания можно будет считать удовлетворительной – промыть водой, чтобы остановить реакцию. Воду сменить несколько раз.
6. Поместить образцы в 70% этанол.

Рабочие растворы:

1х раствор глицина - 4 мг/мл в PBT

Раствор гепарина - 10 мг/мл в MQ воде

HS - 50% Формамид, 5х SSC, 0,1% Tween-20, 0,1% CHAPS, 1х раствора Denhardt's , 100 мкг/мл гепарина в воде.

HSII - 50% Формамид, 25% 20х SSC, 25% H₂O.

50х Денхардт - 1% поливинилпироллидон, 1х Ficoll, 1% BSA, 1 мл в 50 мл HS

MAV - 100 мМоль малеиновой кислоты, 150 мМоль NaCl, pH 7,5.

MAV-T - MAV+0,1% Tween-20

MAV-B - MAV-T+1% BSA

NTMT - 100 мМоль NaCl, 100 мМоль Tris-HCl, 50 мМоль MgCl₂, 0,1% Tween-20, pH 9.5

PBT - PBS+0,1% Tween-20

PBS – 1,5 М NaCl, 0,07М Na₂HPO₄, 0.03 М NaH₂PO₄.

Триэтаноламин - 100 мМоль в воде pH 7,8.

Протеиназа К - 1 мкл/20 мл PBT

20х SSC - 3 М NaCl, 0,3 М цитрат натрия, pH = 7,0